

**Wirkung eines synthetischen LH/FSH-
Releasinghormons auf die Freisetzung des
Luteinisierungshormons und auf die
Ovarfunktion beim Rind**

München 1973

Fritz Höfer



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. H. Karg
Korreferent: Prof. Dr. W. Leidl

Tag der Promotion: 27. Juli 1973

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Vorbemerkung.....	1
2. Literaturteil.....	2
2.1. Hypothalamus und Releasinghormone.....	2
2.2. LH/FSH-Releasinghormon.....	3
2.2.1. Spezifität des synthetischen LH/FSH-Releasinghormons.....	4
2.2.2. Physiologie der gonadotropen Releasinghormone.....	5
2.2.2.1. Lokalisation der gonado- tropen Releasinghormone im Hypothalamus.....	5
2.2.2.2. Freisetzung der gonado- tropen Releasinghormone im Hypothalamus.....	7
2.2.2.3. Wirkung der gonadotropen Releasinghormone an der Hypophyse.....	8
2.2.2.4. Gonadotrope Releasing- hormone und die Synthese von LH und FSH; Speicherung von LH und FSH.....	9
2.3. Die Stellung der gonadotropen Releasing- hormone innerhalb der neurohormonalen Regulation des Sexualzyklus.....	10

	Seite
2.3.1. Bedeutung der gonadotropen Hormone...	10
2.3.2. Bedeutung der Steroidhormone des Ovars.....	10
3. Methodischer Teil.....	14
3.1. Tiermaterial.....	14
3.2. Blutentnahmetechnik.....	14
3.3. Rektale Untersuchung.....	16
3.4. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginal- schleims.....	17
3.5. Radioimmunologische Bestimmungsmethode für LH.....	17
3.5.1. Antiserum und Standardsubstanz.....	18
3.5.2. Jodierung.....	19
3.5.3. Inkubation.....	19
3.5.4. Meßtechnik und Auswertung.....	20
3.6. Bestimmung von Progesteron.....	21
3.7. Präparation von LH/FSH-RH.....	21
4. Eigene Versuche.....	22
4.1. Dosisabhängige LH-Freisetzung nach Injektion des LH-Releasinghormons.....	22
4.1.1. LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion beim weiblichen Rind.....	22
4.1.2. LH-Freisetzung nach intravenöser Injektion beim weiblichen Rind.....	30

4.1.3. LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion beim männlichen Rind.....	31
4.1.4. LH-Freisetzung nach intravenöser Injektion beim männlichen Rind.....	36
4.2. LH-Freisetzung nach wiederholten Injektionen von LH-RH beim weiblichen und männlichen Rind.....	38
4.3. LH-Freisetzung nach gleichen Dosierungen von LH-RH in Abhängigkeit von verschiedenen Zyklusphasen.....	52
4.3.1. Gesamte LH-Freisetzung nach Injektionen von LH-RH in Abhängigkeit von ver- schiedenem Zyklusphasen.....	52
4.3.2. LH-Zunahme im Plasma in der Anfangs- phase der LH-Freisetzung nach Verab- reichung von LH-RH in Abhängigkeit von verschiedenen Zyklusphasen.....	54
4.4. LH-Freisetzung nach einer Östrogeninfusion mit anschließender LH-RH-Injektion.....	55
4.5. Beeinflussung der Ovarfunktion (Auslösung von Ovulationen) nach Applikation von LH-RH.....	57
4.5.1. Versuche zur Ovulationsauslösung während verschiedener Zyklusphasen.....	57
4.5.1.2. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginalschleims in Abhängig- keit von LH-RH-Injektionen.....	63
4.5.1.2.1. Veränderung des elektrischen Widerstandes nach verschiedenen Dosierungen von LH-RH beim gleichen Tier.....	63

4.5.1.2.2. Veränderung des elek- trischen Widerstandes nach gleich hohen Do- sierungen von LH-RH beim gleichen Tier während verschiedener Zyklusphasen.....	65
4.5.1.2.3. Veränderung des elek- trischen Widerstandes des Vaginalschleims nach mehreren In- jektionen von LH-RH.....	68
4.5.2. Versuche zur Ovulationsauslösung nach Entfernen des Gelbkörpers.....	70
4.5.3. Versuche zur Ovulationsauslösung an Kühen in der post-partum-Phase.....	82
5. Diskussion.....	89
6. Zusammenfassung.....	108
7. Literaturverzeichnis.....	112
Lebenslauf.....	126

Abkürzungen

ACTH	= Adrenocorticotropes Hormon
FSH	= Follikelstimulierendes Hormon
FSH-RH	= Follikelstimulierendes Hormon - Releasinghormon
GRH	= Wachstumshormon - Releasinghormon
HVL	= Hypophysenvorderlappen
i.m.	= intramuskulär
i.v.	= intravenös
LH	= Luteinisierungshormon
LH-RH	= Luteinisierungshormon-Releasinghormon
LH/FSH-RH	= Luteinisierungshormon- und Follikelstimu- lierendes Hormon-Releasinghormon
mg	= 10^{-3} Gramm
μ g	= 10^{-6} Gramm
ng	= 10^{-9} Gramm
RIT	= Radioimmunotest
TRH	= TSH-Releasinghormon

1. V o r b e m e r k u n g

Als spezifisches Hormon für die Auslösung der Ovulation gilt das Luteinisierungshormon (LH). Damit nimmt LH eine zentrale Stellung innerhalb des Zyklusgeschehens ein. Die Freisetzung von LH in das Blut wird durch das LH-Releasing-Hormon (LH-RH), welches im Hypothalamus synthetisiert wird, gesteuert. Die Struktur dieses Releasinghormons konnte erst kürzlich aufgeklärt werden, und es steht bereits in synthetischer Form zur Verfügung.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Wirkung des synthetischen Releasinghormons auf die Freisetzung des Luteinisierungshormons und die Ovarfunktion beim Rind. Da nun die LH-Freisetzung mit Hilfe des synthetischen Releasinghormons willkürlich gesteuert werden kann, knüpfen sich daran Hoffnungen, daß sich hier neue Wege zur Zyklusbeeinflussung und Therapie von Fruchtbarkeitsstörungen erschließen lassen. Mit den durchgeführten Untersuchungen soll ein Beitrag für die Erarbeitung analytischer Grundlagen geleistet werden.

2. L i t e r a t u r t e i l

2.1. Hypothalamus und Releasinghormone

Seit Beginn der Dreißigerjahre dieses Jahrhunderts gibt es Hinweise dafür, daß vom Zwischenhirn Impulse ausgehen, die die Sekretion der Hormone des Hypophysenvorderlappens regulieren. 1932 erkannten HOHLWEG & JUNKMANN den Hypothalamus als Zentrum einer übergeordneten nervösen Steuerung der Hypophyse.

Als man zwischen Hypothalamus und Hypophysenvorderlappen ein spezifisches venöses Gefäßsystem feststellte, entwickelte HINSEY (1937) die Vorstellung, daß der Hypothalamus über bestimmte Neurohormone die Sekretion der Hormone des Hypophysenvorderlappens kontrollieren könnte.

In einer Vielzahl von Versuchen wurde diese Theorie in den folgenden Jahren bestätigt und abgesichert. Es gelang der Nachweis einer ganzen Gruppe von Neurohormonen mit stimulierender oder hemmender Wirkung auf jeweils ein spezifisches Tropin des Hypophysenvorderlappens.

Sie wurden bezeichnet als Releasinghormone des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH-RH), des Luteinisierungshormons (LH-RH), des Follikelstimulierenden Hormons (FSH-RH), des Thyreotropen Hormons (TSH-RH), des Wachstumshormons (GRH) und des Melanozytenstimulierenden Hormons (MRH). Hemmende Neurohormone, sogenannte Inhibitoren, sollen die Freisetzung des Prolaktins und des Melanozytenstimulierenden Hormons kontrollieren.

(Prolactin-inhibiting hormone: PIH; MSH - inhibiting hormone: MIH).

1969 gelang FOLKERS et al. der bedeutende Schritt zur Reindarstellung und nachfolgenden Strukturaufklärung eines Neurohormons, des Tripeptits TSH-RH. Es wurde nur kurze Zeit später von derselben Arbeitsgruppe synthetisch hergestellt.

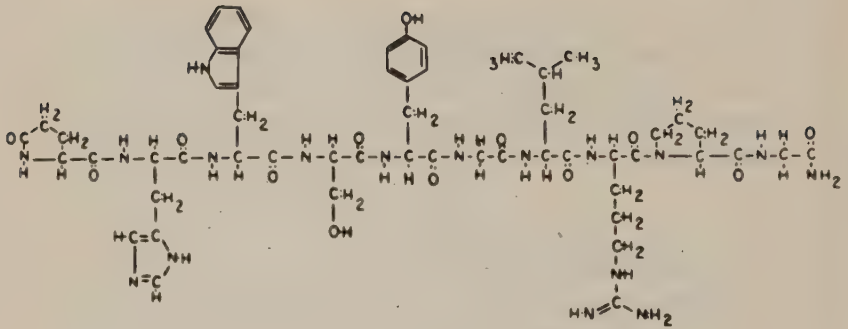
2.2. LH/FSH-Releasinghormon

1960 bewiesen McCANN et al. die Existenz eines Neurohormons, das in der Lage ist, LH aus dem Hypophysenvorderlappen freizusetzen: Nach Verabreichung von Hypothalamusextrakten an juvenile Ratten beobachteten sie einen Anstieg des Luteinisierungshormons im peripheren Blut.

1971 isolierten SCHALLY et al. aus über 370000 Schweinehypothalami eine Substanz, die bei Ratten die Freisetzung von LH und FSH stimulierte. Noch im selben Jahr wurde die Struktur dieser Verbindung aufgeklärt (MATSUO et al. 1971 a).

Das Molekül des Schweine-LH/FSH-Releasinghormons besteht aus 10 Aminosäuren. Es hat ein Molekulargewicht von 1181. Die exakte chemische Struktur ist in Abb. 1 wiedergegeben. Nur wenig später gelang derselben Forschergruppe die Synthese dieser Verbindung (MATSUO et al. 1971 b).

Das synthetische LH/FSH-Releasinghormon liegt als farbloses bis beiges Pulver vor. Es ist nicht hygroskopisch und in physiologischer Kochsalzlösung leicht löslich.



PYROGLU-HIS-TRP-SER-TYR-GLY-LEU-ARG-PRO-GLY-NH₂

Abb. 1 Strukturformel des synthetischen LH/FSH-Releasinghormons (SCHALLY et al. 1971)

2.2.1. Spezifität des synthetischen LH/FSH-Releasinghormons

Das synthetische LH/FSH-RH stimuliert die Abgabe von LH und FSH aus dem Hypophysenvorderlappen (HVL). Andere Hormone des HVL werden nicht beeinflusst.

Beim Goldhamster (ARIMURA et al. 1971), Kaninchen (DUFY-BARBE et al. 1972), Geflügel (ONUORA et al. 1972), Schwein (REEVES et al. 1972 b), männlichen Rind (GOLTER et al. 1972), Pferd (ANAND 1973), Hund (BOYNS et al. 1972) und Rhesusaffen (ARIMURA et al. 1973) konnte ein Anstieg des LH-Spiegels im Blut nach Injektion von LH/FSH-RH festgestellt werden.

Bei Ratte (SCHALLY et al. 1971 b) und Schaf (REEVES et al. 1972 b) wurde, ebenso wie beim Menschen (KASTIN et al. 1972, BESSER et al. 1972, SCHNEIDER & DAHLEN 1972), eine Freisetzung von LH und FSH nach LH/FSH-RH-Injektion nachgewiesen.

Damit ist das synthetische Releasinghormon nicht art-spezifisch.

Es zeigte sich, daß steigende Dosierungen von LH/FSH-RH steigende Mengen des Luteinisierungshormons freisetzen. Eine entsprechende Dosiswirkungsabhängigkeit zwischen LH/FSH-RH und FSH besteht nicht.

2.2.2. Physiologie der gonadotropen Releasinghormone

2.2.2.1. Lokalisation der gonadotropen Releasinghormone im Hypothalamus

Obwohl das synthetische LH/FSH-Releasinghormon LH und FSH freisetzt ist unklar, ob nur ein oder mehrere Neurohormone physiologisch die LH- und FSH-Abgabe vom Hypophysenvorderlappen stimulieren.

"In-vitro"-Versuche von WATANABE & McCANN (1968) und

CRIGHTON et al. (1970) mit Hypothalamusextrakten von Ratten zeigten, daß es im Hypothalamus 2 Zentren gibt, die durch hohe LH/FSH-RH Aktivität ausgezeichnet sind.

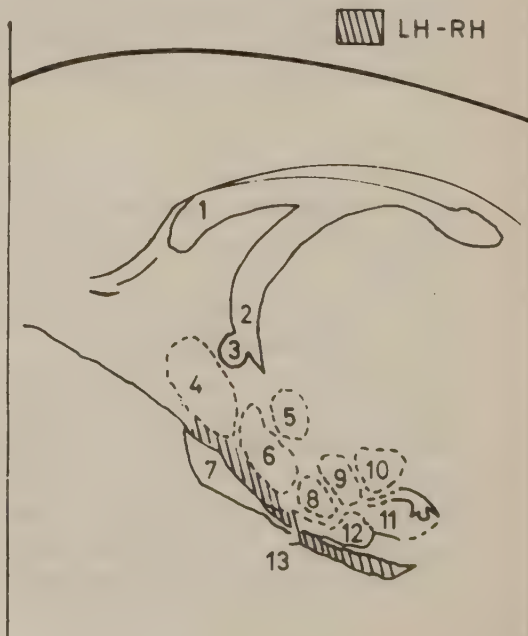
Das erste Zentrum liegt in der medial-basalen Region des Hypothalamus. Es umfaßt den Hypophysenstiel, die Eminentia mediana und die Bereiche des Nucleus arcuatus und des Nucleus ventromedialis. Extrakte dieses Abschnitts stimulierten die Abgabe von FSH und LH aus dem Hypophysenvorderlappen.

Ein zweites Zentrum entdeckte man etwas weiter rostral, in Teilen der Area praeoptica und des Nucleus hypothalamicus anterior, sowie im Nucleus suprachiasmaticus. Extrakte dieses Abschnitts hatten spezifisch LH-freisetzende Wirkung.

In der Abb. 2 ist die Lokalisation des LH-RH im Hypothalamus wiedergegeben.

Abb. 2 Lokalisation des LH-RH im Hypothalamus (modifiziert nach CRIGHTON et al. 1970)

- 1 Corpus callosum
- 2 Fornix
- 3 Commissura anterior
- 4 Area praeoptica
- 5 Nucleus paraventricularis
- 6 Nucleus hypothalamicus anterior
- 7 Chiasma opticum
- 8 Nucleus ventromedialis
- 9 Nucleus dorsomedialis
- 10 Nucleus hypothalamicus posterior
- 11 Nucleus mamillaris medialis
- 12 Nucleus arcuatus
- 13 Eminentia mediana



2.2.2.2. Freisetzung der gonadotropen Releasinghormone im Hypothalamus

McCANN & PORTER (1969) nehmen an, daß die sekretorischen Elemente, die die Releasinghormone enthalten und abgeben, Neurone sind. Ihre Zellkörper sollen einerseits im Gebiet der Area praeoptica und des Nucleus suprachiasmaticus liegen, zum anderen in der Gegend des Nucleus arcuatus. Über mehr oder weniger lange Axone scheinen sie mit der Eminencia mediana und dem Hypophysenstiel in Verbindung zu stehen. Dort sollen sie in direkter Nachbarschaft zu den Kapillaren der Hypophysenportalgefäße enden.

Es deutet nun vieles darauf hin, daß die Freisetzung des LH/FSH-RH über katecholaminartige Transmittersubstanzen geschieht (RUBINSTEIN & SAWYER 1970).

So führten intraventrikuläre Infusionen von Adrenalin beim Kaninchen zu Ovulationen (MARKEE et al. 1952). Das Alkaloid Reserpin, das im zentralen Nervensystem die Speicherfähigkeit der sympathischen Neurone für Katecholamine hemmt, verhindert bei der Ratte eine LH-Freisetzung. Zugabe von Monoaminoxidasehemmstoffen hebt diesen Effekt wieder auf (BARRACLOUGH & SAWYER 1957, RUBINSTEIN & SAWYER 1970).

Darüberhinaus stellte man fest, daß dopaminhaltige Neurone ihre Zellkörper insbesondere im Bereich des Nucleus arcuatus haben. Ihre Axone sollen im Gebiet der Eminencia mediana in enger Verbindung mit den Hypophysenportalgefäßen enden (FUKE et al. 1967).

Als es gelang mit Dopamininfusionen in den dritten Ventrikel bei Ratten die LH-Freisetzung zu steigern, entwickelten SCHNEIDER & McCANN (1969) folgende Modellvorstellung von einem

Dopamin und LH-RH verbindenden Mechanismus:

Dopaminerge Neurone und die sekretorischen Neurone des LH-RH verlaufen in engem axo-axonalem Kontakt und enden unmittelbar an den Kapillaren der Hypophysenportalgefäße. Freigesetztes Dopamin depolarisiert die LH-RH enthaltenden Axone. Über die Portalgefäße gelangt LH-RH an das Erfolgsorgan.

Gleiches wird für die Freisetzung von FSH-RH angenommen (KAMBERT et al. 1970).

2.2.2.3. Wirkung der gonadotropen Releasinghormone an der Hypophyse

Die gonadotropen Hormone sind in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens enthalten.

Es gibt zwei Hypothesen, die den Wirkungsmechanismus der Releasinghormone an diesen Hypophysenzellen erklären.

Nach McCANN et al. (1969) sollen die gonadotropen Releasinghormone die Zellmembranen depolarisieren.

Calciumionen gelangen in die Zellen, bewegen Grana, in denen LH oder FSH gespeichert wird, an die Zelloberfläche und setzen von dort aus LH oder FSH frei.

Nach der 2. Hypothese (McCANN 1970) sollen die Neurohormone die Adenylzyklase in den Zellmembranen aktivieren.

Dabei entsteht zyklisches Adenosinmonophosphat, das seinerseits die Freisetzung der Gonadotropine in Gang setzt.

Nach McCANN (1970) könnte eine Kombination beider Hypothesen den tatsächlichen Vorgängen am nächsten kommen.

2.2.2.4. Gonadotrope Releasinghormone und die Synthese von LH und FSH; Speicherung von LH und FSH

MITTLER et al. (1971) bewiesen, daß synthetisches LH/FSH-RH Gonadotropine nicht nur freisetzen, sondern auch synthetisieren kann.

Zellkulturen von LH- und FSH-freien basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens von Ratten, die über mehrere Tage mit Mikrogramm-Dosierungen von LH/FSH-RH behandelt wurden, gaben hochsignifikant mehr LH und FSH ab, als unbehandelte Kontrollkulturen.

SCHALLY et al. (1971) verwendeten radioaktiv markiertes Glukosamin, um die Synthese des LH meßbar zu machen (das H^3 -Glukosamin wird in das Luteinisierungshormon eingebaut). Mit Nanogramm-Mengen LH/FSH-RH behandelte HVL-Zellkulturen enthielten deutlich mehr markiertes LH, als unbehandelte Zellkulturen.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten an HVL-Zellen, denen man GRH zugegeben hatte, eine Vergrößerung des endoplasmatischen Retikulums und Wachstum des Golgiapparates, beides Hinweise für eine gesteigerte Proteinsynthese (COATES et al. 1967). Es ist wahrscheinlich, daß dies ebenso für die gonadotropen Releasinghormone gültig ist.

Das neu synthetisierte Hormon soll in Grana gespeichert werden. Diese Annahme bietet eine Erklärung dafür, daß nur wenige Minuten nach der LH/FSH-RH-Applikation die Gonadotropine freigesetzt werden (McCANN 1969).

2.3. Die Stellung der gonadotropen Releasinghormone innerhalb der neurohormonalen Regulation des Sexualzyklus

2.3.1. Bedeutung der gonadotropen Hormone

Über das LH/FSH-Releasinghormon werden das Luteinisierungshormon und das Follikelstimulierende Hormon aus dem Hypophysenvorderlappen in das Blut abgegeben.

Im Rahmen des Sexualzyklus werden als Aufgaben des LH diskutiert:

- 1) Auslösung der Ovulation über einen praeovulatorischen LH-Gipfel.
- 2) Luteinisierung, d.h. Bildung eines Corpus luteum.
- 3) Luteotropie, d.h. Aufrechterhaltung des Gelbkörpers und Anregung der Progesteronsynthese. (Dies gilt insbesondere für das Rind.)

FSH stimuliert in erster Linie das Follikelwachstum. Darüberhinaus sorgt es mit LH zusammen für die Reifung der Follikel.

2.3.2. Bedeutung der Steroidhormone des Ovars

Obwohl das synthetische LH/FSH-Releasinghormon LH und FSH freisetzt, und damit ein für beide Gonadotropine gleicher Freisetzungsmechanismus erwiesen ist, werden FSH und LH nicht immer in gleich hohen Konzentrationen

im Blut festgestellt. Mitverantwortlich dafür sind die Östrogene und das Progesteron des Ovars, die unter dem Einfluß der Gonadotropine gebildet werden. Ihr Anstieg im peripheren Blut wird vom Hypothalamus registriert und führt dort über Stimulierung oder Hemmung zu einer kontrollierten LH-RH und FSH-RH Freisetzung. Man spricht von einem positiven Rückkopplungsmechanismus (positiver Feedback), wenn die Sexsteroidoide die Ausschüttung eines Gonadotropins über LH-RH oder FSH-RH stimulieren, von einem negativen Rückkopplungsmechanismus (negativer Feedback), wenn sie die Freisetzung eines Gonadotropins hemmen (siehe dazu Abb. 3).

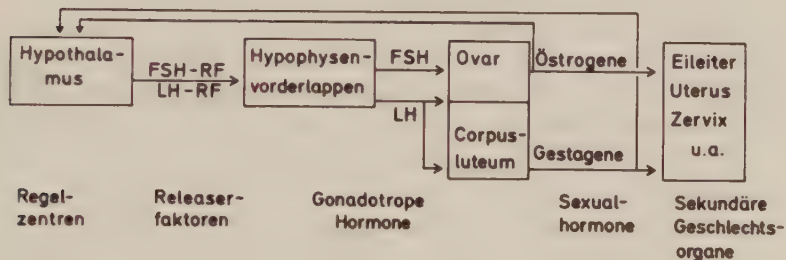


Abb. 3 Neurohormonale Regulation des Sexualgeschehens
(KARG 1970)
(FSH-RF = FSH-RH, LH-RF = LH-RH)

Es ist bekannt, daß diese Feedbackmechanismen nicht an einem einzigen Punkt im Hypothalamus angreifen.

Nach elektrischer Reizung verschiedener Abschnitte des Rattenhypothalamus stellte EVERETT schon 1964 fest, daß von Teilen der Area praeoptica und des Nucleus hypothalamicus anterior und dem Nucleus suprachiasmaticus die zyklische Freisetzung des LH-RH erfolgt. Als verantwortliches Zentrum für eine kontinuierliche, tonische LH-RH- und FSH-RH-Abgabe wurde der Bereich um den Nucleus arcuatus identifiziert (KANEMATSU & SAWYER 1963, RAMIREZ et al. 1964). Auf Grund dieser Beobachtungen und neuerer Untersuchungen (QUINN 1970) scheint es heute wahrscheinlich, daß Östrogene im Praeopticusgebiet über einen positiven Rückkopplungsmechanismus angreifen und den praeovulatorischen LH-Gipfel auslösen.

Im Sinne eines negativen Feedback sollen dagegen die Östrogene im Bereich der Eminencia mediana wirken (KANEMATSU & SAWYER 1963, RAMIREZ et al. 1964). So zeigten ovariectomierte Ratten mit künstlichen Läsionen im Bereich der Eminencia mediana den sonst nach Ovariectomie auftretenden LH-Anstieg im Plasma nicht.

Progesteron scheint in jedem Fall über negative Rückkopplung die Freisetzung der gonadotropen Releasinghormone zu steuern. Es soll dabei insbesondere im Gebiet des vorderen Hypothalamus angreifen und so eine LH-Zunahme im Plasma verhindern (QUINN 1970). Subkutane Injektionen von Progesteron beim Meerschweinchen können die tonische Freisetzung von LH-RH und FSH-RH aus dem Gebiet um den Nucleus arcuatus nicht behindern (DEANESLY 1968). Es werden trotz der Progesteronverabreichung, ähnlich wie während der Gelbkörperphase des Zyklus, Follikel ausgebildet.

An Hand dieser Rückkopplungsmechanismen wird die endokrine Funktion der Steroide im Sexualzyklus deutlich.

Das Progesteron sorgt über einen negativen Feedback am Hypothalamus für einen Gleichgewichtszustand zwischen Hypothalamus-Hypophysensystem und Ovarien während des Zyklus (KARG 1968).

Durch die Wirkung des luteolytischen Faktors am Corpus luteum wird dieser Gleichgewichtszustand aufgehoben. Östrogene sind mit in der Lage über einen positiven Feedbackmechanismus einen neuen Zyklus in Gang zu setzen.

Neben diesen "external feedback-Mechanismen" wird ein "short", "internal" oder "auto feedback-Mechanismus" diskutiert (MARTINI et al. 1968). Dabei sollen LH und FSH selbst eine hemmende Wirkung auf die beiden Hypothalamuszentren ausüben. Nach SCHALLY et al. (1971) ist die physiologische Bedeutung dieses Rückkopplungsmechanismus umstritten.

3. Methodischer Teil

3.1. Tiermaterial

Die Tierversuche wurden auf der Versuchsstation Veitshof der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weißenstephan der Technischen Universität München durchgeführt. Es standen insgesamt 13 Kühe, 9 Kalbinnen und 4 männliche Rinder zur Verfügung. Die Bezeichnung, das Alter und die Rasse der verwendeten Tiere sind in der Tabelle 1 aufgeführt.

3.2. Blutentnahmetechnik

Vor Beginn eines Versuches wurde den Tieren am Nachmittag ein Plastikkatheter in die Vena jugularis eingelegt. Damit war es am Versuchstag möglich, in beliebigen Zeitabständen Blutproben zu entnehmen. Mit Hilfe einer Heparinlösung (Liquemin, Heparinpräparat der Fa. Hoffmann-La Roche) konnte die Blutgerinnung im Katheter verhindert werden. Nach i.v. oder i.m. Applikation des synthetischen Releasinghormons erfolgten die Blutentnahmen in den ersten 2 1/2 Stunden in der Regel in fünf- bis zehnminütlichem Abstand, in den nächsten 6 Stunden in 15 Minuten-Intervallen. Die Blutproben wurden in Zentrifugenröhrchen, die 0,1 ml einer Heparinlösung enthielten, gesammelt, gekühlt, abzentrifugiert

Tab. 1

Tiermaterial

Tier	Alter in Jahren	Rasse
Kalbin Helga	1	B
" Giba	1 1/2	B
" Zenzi	1 1/2	B
" Susi	1 1/2	B
" Kalma	2	B
" Reschli	2	B
" Rocki-M	2	B
" Many	2	B
" Bella	2	B
Kuh Hall	2 1/2	B
" Karo	3	B
" Kakdon	3 1/2	B
" Kapi	3 1/2	B
" Laro	3 1/2	B
" Kalipri	4	B
" Nydo	4 1/2	B
" Bruni	6	B
" Kabine	6	B
" Rocki	7	B
" Kakwi	8	B
" Roja	12 1/2	B
" Kalidip	13	B
Bulle Kabine	2	B
" Kaliro	2	B
" Lado	2	B
" Bulli	4	H

B = Braunvieh

H = Höhenfleckvieh

und bei -18° Celsius bis zum Test aufbewahrt.

Nach verschiedenen Versuchen war es notwendig, Blutproben in zwei- bis dreitäglichem Abstand mehrere Wochen lang zu entnehmen. Diese Blutproben wurden durch Punktion der Vena jugularis mit Hilfe kleiner Kanülen gewonnen.

3.3. Rektale Untersuchung

Durch rektale Palpation wurden die Veränderungen an den Ovarien und am Uterus festgestellt.

Am Versuchstag wurden die Ovarien vor der Verabreichung des synthetischen Releasinghormons kontrolliert. Nach der Injektion erfolgten rektale Untersuchungen im Abstand von 2 bis 4 Stunden bis zum Abend des Versuchstages.

Am ersten Tag nach dem Versuch wurden früh, mittags und abends rektale Untersuchungen vorgenommen.

Verschiedene Versuche machten es notwendig, die Ovarien mehrere Wochen lang zu kontrollieren. Dabei erfolgten die rektalen Palpationen in ein- bis zweitäglichem Abstand. Bei der rektalen Untersuchung wurden Konsistenz und Tonus des Uterus registriert.

Bei den Rindern in der post-partum-Phase galten als Kriterien für eine abgeschlossene Uterusinvolution: Rückkehr des Uterus in seine normale Lage im Becken, normale und annähernd gleiche Größe der Uterushörner, normale Konsistenz und normaler Tonus des Uterus (nach MORROW et al. 1969).

3.4. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginalschleims

Der elektrische Widerstand des Vaginalschleims wurde mit Hilfe eines Ohmmeters* gemessen.

Das Ohmmeter wird an eine Batterie angeschlossen. Als Elektroden sind in die Spitze eines Kunststoffstabes (Durchmesser 1,5 cm) 2 Goldringe im Abstand von 0,5 cm eingearbeitet. Gemessen wird der Strom, der zwischen den beiden Ringen fließt.

Nach Spreizen der Schamlippen wird der Elektrodenstab in die Scheide eingeführt und bis zur Portio vaginalis vorgeschoben. Im ventral gelegenen Schleimsee des Orificium externum wird der Stab einige Male hin und her bewegt. Auf diese Weise kann sich zwischen beiden Elektroden mehr Schleim ansammeln. Nach einer Verweildauer von 30 Sekunden wird der Meßwert abgelesen. Nach jedem Gebrauch wurde der Elektrodenstab mit einem Desinfektionsmittel gereinigt. Am Versuchstag wurde kurz vor Verabreichung des Releasinghormons der elektrische Widerstand des Vaginalschleims gemessen. Nach der Injektion erfolgten Messungen in ein bis zweistündlichem Abstand. Darüberhinaus wurden am Morgen und am Abend des Tages nach dem Versuch Messungen vorgenommen.

3.5. Radioimmunologische Bestimmungsmethode für LH

* Wir verdanken das Meßgerät der Zusammenarbeit mit den Herren Prof. Leidl und Dr. Metzger von der Gynäkologischen Tierklinik der Universität München

Die Methode zur radioimmunologischen Bestimmung des LH baut auf folgendem Prinzip auf: Bindung des Jod 125 oder Jod 131 markierten Hormons an spezifische Antikörper. Kompetitive Hemmung dieser Bindung, wenn nicht markiertes homologes Hormon in der Testsubstanz vorhanden ist.

Werden nicht markiertes LH, LH-Antikörper und radioaktiv markiertes LH zusammengegeben, so reagieren sie nach den Regeln des Massenwirkungsgesetzes miteinander. Das markierte Hormon wird um so weniger an den Antikörper gebunden, je mehr homologes, nicht markiertes Hormon in der Inkubationslösung vorliegt.

An Hand einer Eichkurve kann diese Beziehung quantitativ ausgewertet werden.

Das LH wurde im Plasma nach dem von SCHAMS & KARG (1969) beschriebenen Arbeitsverfahren bestimmt. Dieses besteht aus folgenden Schritten:

3.5.1.1. Antiserum und Standardsubstanz

Das LH-Antiserum wurde von Kaninchen gewonnen.

Über Spezifität der LH-Antisera und ihre Reinigung von unspezifischen Antikörpern wurde von KARG & SCHAMS (1968) berichtet.

Als Standardsubstanz stand uns eine LH-Präparation aus Rinderhypophysen von Dr. Papkoff (USA) zur Verfügung. Die Aktivität dieser Präparation gegenüber dem NIH-Standard betrug $0,9 \times \text{LH-NIH-S1}$.

3.5.2. Jodierung

Zur Markierung (nach einer Methode von GREENWOOD, HUNTER & GLOVER 1963) wurde in der Regel Jod 125 verwendet. Jod 131 weist zwar eine stärkere Bindung auf, seine Halbwertszeit ist jedoch deutlich kürzer (Jod 131: 8 Tage, Jod 125: 60 Tage). (Das radioaktive Jod wurde meist von den Farbwerken Hoechst, Frankfurt, zum Teil von Radiochemical Center, Amersham/England, bezogen.) Die Trennung von markiertem LH und anorganischem Jod erfolgte über eine Sephadex G-50-Säule.

3.5.3. Inkubation

Jede Probe wurde doppelt angesetzt. Proben, die nach einem ersten Test Höchstkonzentrationen von LH enthielten, wurden in einem oder mehreren Wiederholungstests erneut doppelt angesetzt. Sie wurden verdünnt mit 0,05 molarem Phosphatpuffer (pH 7,5) plus 5%o humanem Albumin.

In die Plastikröhrchen wurden in der angegebenen Reihenfolge pipettiert:

- 0,1 ml LH-armes Rinderserum (Bullenserum mit einem LH-Gehalt von 0,8 ng/ml) mit Puffer 1:4 verdünnt
- 0,1 ml Antiserum (Endverdünnung 1:150 000)
- 0,2 ml Standardlösung bzw. Testserum (gegebenenfalls 1:4, 1:9, 1:19 und 1:29 verdünnt)

Nach 24 Stunden Inkubation erfolgte der Zusatz von ca. 0,1 ng radiojodiertem LH in 0,1 ml Phosphatpuffer

Nach weiteren 72 Stunden Inkubation bei +5°C folgten 0,1 ml anti-Kaninchen-Gammaglobulinserum vom Schaf in einer Verdünnung von 1:14

0,1 ml normales Kaninchenserum in einer Verdünnung von 1:300

Weitere 24 Stunden Inkubation bei +5°C.

3.5.4. Meßtechnik und Auswertung

Die Gesamtaktivität der Proben wurde nur stichprobenartig gemessen. Dies ermöglichte eine präzise maschinelle Pipettiertechnik. Die Trennung des markierten, freien LH von dem komplexgebundenen, markierten LH erfolgte durch Zentrifugation. Dabei wurden dem Inkubationsvolumen der Proben 2 ml Rinderserum (mit 0,05 molarem Phosphatpuffer pH 7,5 1:14 verdünnt) zugegeben. Anschließend wurden die Proben 30 Minuten lang bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abkippen des Überstandes blieb der Komplex (Antikörper plus markiertes Hormon) als Präzipitat zurück. Dessen Radioaktivität wurde im Szintillationszähler gemessen.

So konnte das Verhältnis von antikörpergebundenem, markiertem LH zur Gesamtaktivität ermittelt werden. An Hand einer Eichkurve mit dem Standard-LH erfolgte die Auswertung.

Auf weitere Einzelheiten des RIT soll hier nicht eingegangen werden. Sie wurden bereits mehrfach an anderer Stelle beschrieben (SCHAMS & KARG 1969, BÖHM 1969, HERLYN 1970).

3.6. Bestimmung von Progesteron

Die Progesteronbestimmungen wurden radioimmunologisch im Steroidlabor des Instituts von Herrn Dr. B. Hoffmann und Dipl. ing. agr. M.L. Ender im Rahmen einer Teamarbeit durchgeführt. Über methodische Details siehe B. HOFFMANN (1972) und M.L. ENDER (1973).

3.7. Präparation von LH/FSH-RH

Das synthetische LH/FSH-RH (LRH-Hoe 471) wurde von den Farbwerken Hoechst AG*, Frankfurt, zur Verfügung gestellt.

Da im Rahmen unserer Versuche mit dem synthetischen Releasinghormon nur LH im Blutplasma bestimmt wurde, ist das LH/FSH-RH im Versuchsteil als LH-Releasinghormon bezeichnet.

* Für die Bereitstellung des synthetischen Releasinghormons sind wir den Farbwerken Hoechst zu Dank verpflichtet.

4. E i g e n e V e r s u c h e

4.1. Dosisabhängige LH-Freisetzung nach Injektion des LH-Releasinhormons

4.1.1. LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion beim weiblichen Rind

Sieben verschiedenen Tieren wurde in 10 Versuchen LH-RH in einem Dosisbereich von 250 bis 2000 μg i.m. verabreicht. Dabei erhielt die Kuh Bruni in drei verschiedenen Zyklen jeweils am 12. Zyklustag 62,5; 500 und 1500 μg LH-RH i.m. injiziert. In der Abb. 4 sind an ihrem Beispiel die Konzentrationsänderungen des LH im Blut wiedergegeben:

Nach 62,5 μg kommt es zu einer geringen Zunahme des LH im Plasma. Nach 500 μg steigen die LH-Werte deutlich an. Der Spitzenwert der LH-Kurve liegt bei 18 ng/ml Plasma.

Nach etwa 4 Stunden sind die Ausgangswerte wieder erreicht. 1500 μg LH-RH zeigen die stärkste Wirkung. Im Vergleich zu 500 μg wird ein höherer LH-Spitzenwert erzielt. Das Luteinisierungshormon fällt erst nach 7 Stunden in den Bereich der Ausgangswerte zurück.

Damit wurde bei der Kuh Bruni mit 62,5 μg LH-RH i.m. injiziert, die untere Wirkungsgrenze des synthetischen Releasinhormons erreicht. In dem Bereich zwischen 62,5 und 1500 μg LH-RH konnte eine dosisabhängige LH-Freisetzung festgestellt werden.

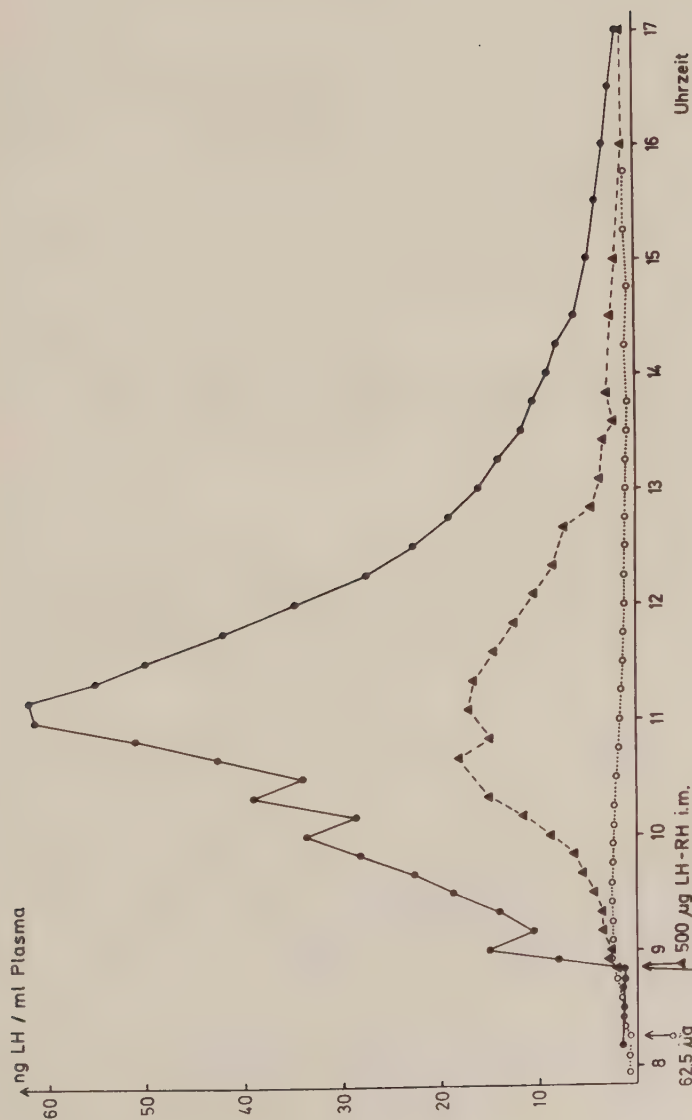


Abb. 4 Kuh Bruni: Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen LH-RH und LH nach i.m. Injektion von 62,5; 500 bzw. 1500 µg LH-RH am 12. Zyklustag

Auch die übrigen Versuche mit LH-RH führten zu diesen Ergebnissen.

Bei allen erhaltenen LH-Kurven ändert sich, abhängig von der Dosishöhe, der Kurvenverlauf. An Hand verschiedener Kurvenparameter soll der Zusammenhang zwischen LH-RH-Dosis und LH-Freisetzung noch einmal dargelegt werden.

Diese Kurvenparameter sind:

- a) Höhe des LH-Spitzenwertes
- b) Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng LH/ml Plasma liegen
- c) Planimetrische Auswertung der graphischen Kurvendarstellung
- d) Zeit zwischen Injektion und LH-Höchstwert
- e) Zeit zwischen Injektion und deutlichem Absinken der LH-Werte

Zu a) Höhe des LH-Spitzenwertes:

Im Dosisbereich zwischen 62,5 und 1500 μg LH-RH nehmen mit steigenden Dosierungen die Höhen der LH-Spitzenwerte zu. Die durchschnittlichen Höchstwerte nach Versuchen mit 62,5; 500 und 1500 μg steigen von 4,4 über 19,9 bis 77 ng LH/ml Plasma linear an (siehe dazu Abb. 5).

Zu b) Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

Nach 62,5 μg LH-RH erreichen die LH-Werte nur kurzzeitig 4 ng/ml Plasma. Nach 250, 500 und 1500 μg ergeben sich mittlere Zeitspannen, in denen die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, von 195, 254 und 339 Minuten. Damit verlängert sich das Zeitintervall erhöhter LH-Werte mit steigenden LH-RH-Dosierungen deutlich.

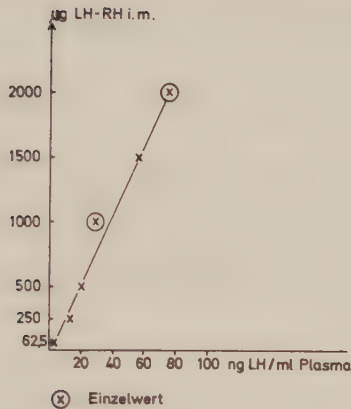


Abb. 5 Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen LH-RH und den Spitzenwerten der LH-Kurven (Mittelwert nach Applikation von 62,5; 250; 500 bzw. 1500 µg LH-RH aus 3, 3, 5 bzw. 3 Versuchen)

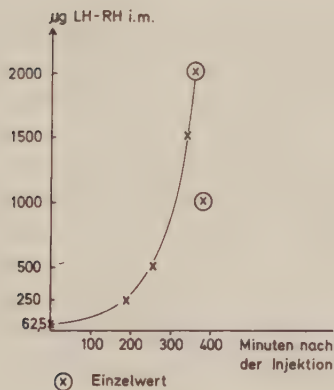


Abb. 6 Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen LH-RH und der Dauer der Zeitintervalle, in denen die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen (Mittelwert nach Applikation von 62,5; 250; 500 bzw. 1500 µg LH-RH aus 3, 3, 5 bzw. 3 Versuchen)

Aus der Abb. 6 kann ersehen werden, daß über 300 μg LH-RH mit steigender Dosis die Zeitspannen erhöhter LH-Werte nicht mehr linear zunehmen.

Zu c) Planimetrische Auswertung der graphischen Kurven-
darstellung:

Nach 62,5; 500 und 1500 μg LH-RH, i.m. injiziert, bedecken die LH-Kurven im Durchschnitt 2 cm^2 , 33,2 cm^2 und 92 cm^2 . Das bedeutet: Werden steigende Dosierungen von LH-RH appliziert, so wächst die Menge des freigesetzten Luteinisierungshormons parallel dazu.

Zu d) Zeit zwischen Injektion und LH-Höchstwert:

Mit steigender Dosis von LH-RH dauert der LH-Anstieg zum jeweiligen Höchstwert länger. Nach Applikationen von 62,5; 500 und 1500 μg LH-RH nehmen die durchschnittlichen Zeiten zwischen Injektion und LH-Höchstwert von 80 über 93 bis 111 Minuten linear zu.

Zu e) Zeit zwischen Injektion und deutlichem Absinken
der LH-Werte:

In der Mehrzahl der Beispiele fallen die LH-Werte nach dem LH-Spitzenwert etwas ab und halten sich dann über eine mehr oder weniger kurze Zeit in einer gewissen Höhe. Erst dann folgt ein konsequentes Absinken der LH-Werte bis in den Bereich der Kontrollwerte.

Die mittleren Zeitintervalle zwischen Injektion und deutlichem LH-Abfall verlängern sich im Dosisbereich zwischen 62,5 und 1000 μg LH-RH von 122 Minuten bis 142 Minuten. Nach 1500 μg LH-RH vergehen zwischen Injektion und deutlichem LH-Abfall nur noch 136 Minuten.

Die Einzeldaten verschiedener Kurvenparameter aller LH-Kurven sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2

Werte verschiedener Lh-Kurvenparameter nach intramuskulärer Applikation von Lh-RH an weibliche Rinder

Tier	Zyklus- tag	Dosis Lh-RH i.m. (µg)	Lh-Ausgangs- wert (ng/ml Plasma)	LH - Maximum			LH - Spitzenwert			Fläche unter der Lh-Kurve (in cm ²)	Zeitintervall, in dem die Lh-Werte über 4 ng Lh/ml Plasma liegen (Min.)
				Zeit nach der Injektion (Min.)	Lh-Wert (ng/ml Plasma)	Zeit nach der Injektion (Min.)	Lh-Wert (ng/ml Plasma)				
Bruni	5.	62,5	1,0	50	4,1	120	5,75		3		50
Bruni	11.	62,5	0,9	40	2,5	40	2,5		1,5		*
Bruni	18.	62,5	1,5	50	2,8	80	4,87		2		60
Hell	6.	250	1,2	60	10,0	80	13,5		19,5		190
Hell	11.	250	1,0	60	11,2	115	15,0		21,5		205
Bella	12.	250	2	**	-	65	16,0		23		165
Laro	6.	500	2,1	40	7,5	85	19,0		27,4		270
Laro	11.	500	1,2	***	-	100	20,0		28,0		255
Bruni	5.	500	1,8	55	6,0	115	22,0		44		265
Bruni	11.	500	1,5	60	6,0	110	18,0		35		240
Bruni	18.	500	1,1	60	5,5	100	16,5		33		240
Kapi	6.	1000	1,9	60	10,5	105	29,0		57		380
Kalidip	5.	1500	2,4	50	17,5	110	86,0		129		380
Kalaa	6.	1500	1,4	50	15,5	110	53,0		73		325
Bruni	13.	1500	1,2	***	-	130	62,0		107		405
Kakdon	11.	2000	1,5	60	21,0	120	74,5		127		360

* - Die Lh-Werte im Plasma stiegen nicht über 4 ng/ml

** = Einphasiger Lh-Anstieg

*** = Dreiphasiger Lh-Anstieg

Phänomen eines biphasischen LH-Anstiegs

Bei annähernd allen Versuchen nach i.m. Verabreichung von LH-RH steigt das LH im Plasma nicht linear zum Höchstwert an. Wie das Beispiel Kapi in der Abb. 7 zeigt, kann man an den LH-Kurven in der Regel 2 Anstiegsphasen unterscheiden:

Die LH-Anstiegsphase 1 umfaßt den Zeitraum der ersten 40 bis 60 Minuten nach der Injektion. In diesem Zeitabschnitt nimmt das LH langsam bis zu einem ersten LH-Maximum zu. Unmittelbar danach wird deutlich mehr LH freigesetzt (LH-Anstiegsphase 2). Nach gleichmäßig starker LH-Zunahme wird ein neuer Höchstwert erreicht. Er ist in der Regel identisch mit dem Spitzenwert der LH-Kurve.

Im Zusammenhang mit diesem Phänomen eines biphasischen LH-Anstiegs kann folgendes beobachtet werden:

Es stellt sich heraus, daß die Zeitspannen zwischen Injektion und erstem LH-Maximum von der Höhe der LH-RH-Dosis unabhängig sind (siehe dazu Tabelle 2). In 15 Versuchen mit Dosierungen zwischen 62,5 und 1500 μg LH-RH, i.m. injiziert, umfassen sie einen Zeitraum von etwa 50 Minuten, mit nur geringen Abweichungen.

Aus den Versuchen geht weiterhin hervor, daß die ersten

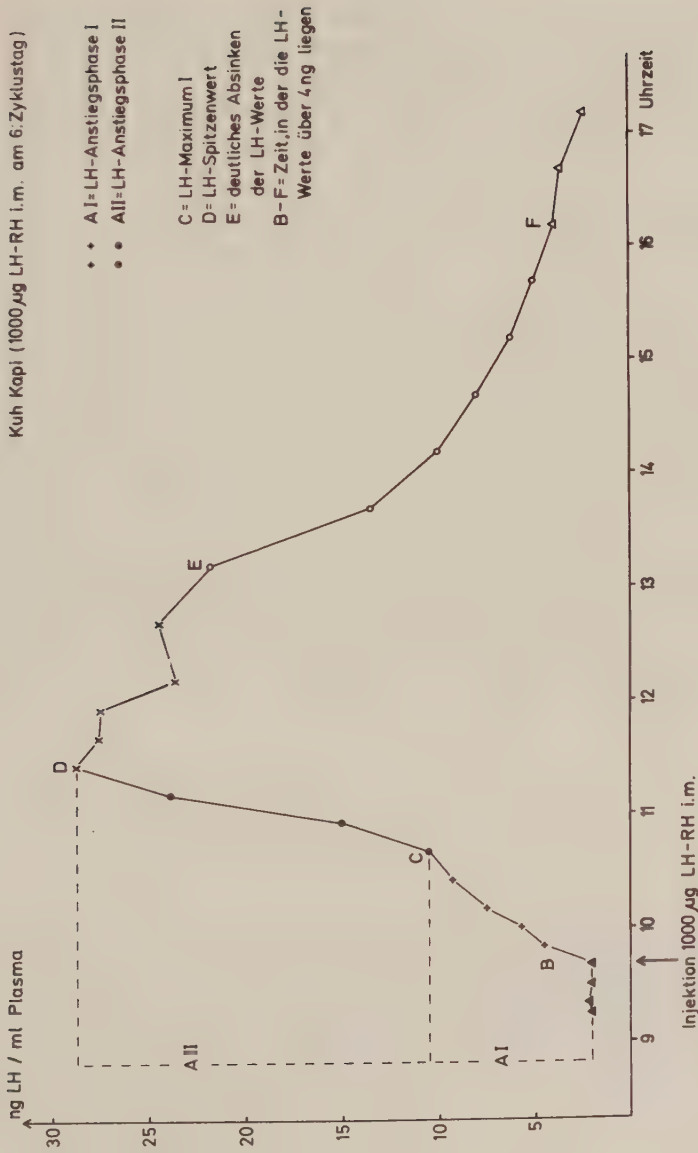


Abb. 7 Typischer Verlauf einer LH-Kurve
(Kuh Kapi: 1000 μ g LH-RH am 6. Zyklustag i.m. injiziert)

LH-Maxima am Ende der LH-Anstiegsphase 1 ab 500 μg LH-RH mit steigender Dosis höher liegen. (Durchschnittswerte nach 500, 1500 und 2000 μg LH-RH: 6,6; 16,6 und 21 ng/ml Plasma.) Dagegen erreichen die LH-Werte der Maxima 1 nach 250 μg LH-RH im Durchschnitt 12,4 ng/ml Plasma.

Einphasiger oder dreiphasiger LH-Anstieg

In 4 von 19 Versuchen verlief der Anstieg zum LH-Höchstwert nicht zweistufig.

Bei den Tieren Bruni (1500 μg LH-RH i.m. am 13. Zyklustag; siehe Abb. 4) und Laro (500 μg LH-RH i.m. am 11. Zyklustag) erreichen die LH-Werte über 2 Vorgipfel den Spitzenwert. Die LH-Kurven zeichnen sich durch hohe Werte in der Anfangsphase des LH-Anstieges aus.

Bei der Kalbin Bella (250 μg LH-RH i.m. am 12. Zyklustag; siehe Abb. 14) und der Kuh Bruni (nach 62,5 μg LH-RH i.m. am 11. Zyklustag) steigt das LH im Plasma kontinuierlich zum Höchstwert an. Dabei liegen auch bei der Kalbin Bella die LH-Werte anfangs relativ hoch.

4.1.2. LH-Freisetzung nach intravenöser Injektion beim weiblichen Rind

Sieben weiblichen Rindern wurde LH-RH in einem Dosisbereich von 50 bis 1500 μg i.v. verabreicht.

Die LH-Höchstwerte und die Flächen der LH-Kurven nehmen mit steigender Dosierung linear zu.

Die Zeitspannen, in denen die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, verlängern sich nur im Dosisbereich zwischen 50 und 300 μg LH-RH linear mit steigenden Dosierungen. Die Einzeldaten dieser Kurvenparameter aller 7 Versuche sind in der Tabelle 3 wiedergegeben.

Aus dieser Tabelle geht gleichzeitig hervor:

- 1) Die Zeitintervalle zwischen Injektion und LH-Spitzenwert nehmen mit steigenden Dosierungen von LH-RH nicht eindeutig zu.
- 2) Das Phänomen eines biphasischen LH-Anstieges tritt nur nach Dosierungen ab 500 μg LH-RH und höher auf.
- 3) Die Zeitspannen zwischen Injektion und LH-Maximum 1 sind, soweit ein biphasischer LH-Anstieg vorhanden ist, annähernd gleich.
- 4) Die LH-Maxima 1 erreichen nach 1500 μg LH-RH i.v. höhere Werte als nach 500 μg .

Darüber hinaus kann festgestellt werden, daß sich die Zeitspannen zwischen Injektion und deutlichem Absinken der LH-Werte mit steigender Dosis nicht ändern. (Nach 50, 600 und 1500 μg LH-RH i.v. jeweils 110 Minuten.)

4.1.3. LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion beim männlichen Rind

In einem Zeitraum von 3 Monaten wurde dem Bullen Kabine in 7 Versuchen LH-RH in einem Dosisbereich zwischen 16 und 1500 μg i.m. verabreicht. Die einzelnen Daten der LH-Kurven sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tab. 3

Werte verschiedener LH-Kurvenparameter nach intravenöser Applikation von LH-RH an weibliche Rinder

Tier	Zyklus= tag	Dosis LH-RH i.v. (µg)	LH-Ausgangs- wert (ng/ml Plasma)	LH - Maximum 1		LH - Spitzenwert		Fläche unter der LH-Kurve (in cm ²)	Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4ng LH/ml Plasma liegen (Min.)
				Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)	Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)		
Rofa	12.	50	2,2	- *	-	85	3,8	<1	- **
Roschli	3.	300	2	- *	-	35	15,0	12,5	165
Kaladip	12.	300	1,3	- *	-	15	15,5	20,5	180
Rocki	6.	600	2	60	11	110	16,0	20,5	210
Nany	12.	500	1,1	50	14	120	12,0	23,5	200
Kapi	13.	500	1,8	60	9,4	110	12,5	- ***	- ***
Giba	6.	1500	1,7	40 = 70	23,5	100	34,5	47,5	295

* = Einphasiger LH-Anstieg

** = Die LH-Werte im Plasma steigen nicht über 4 ng/ml

*** = Zum Zeitpunkt des LH-Spitzenwertes wurde eine
2. Injektion von LH-RH verabreicht

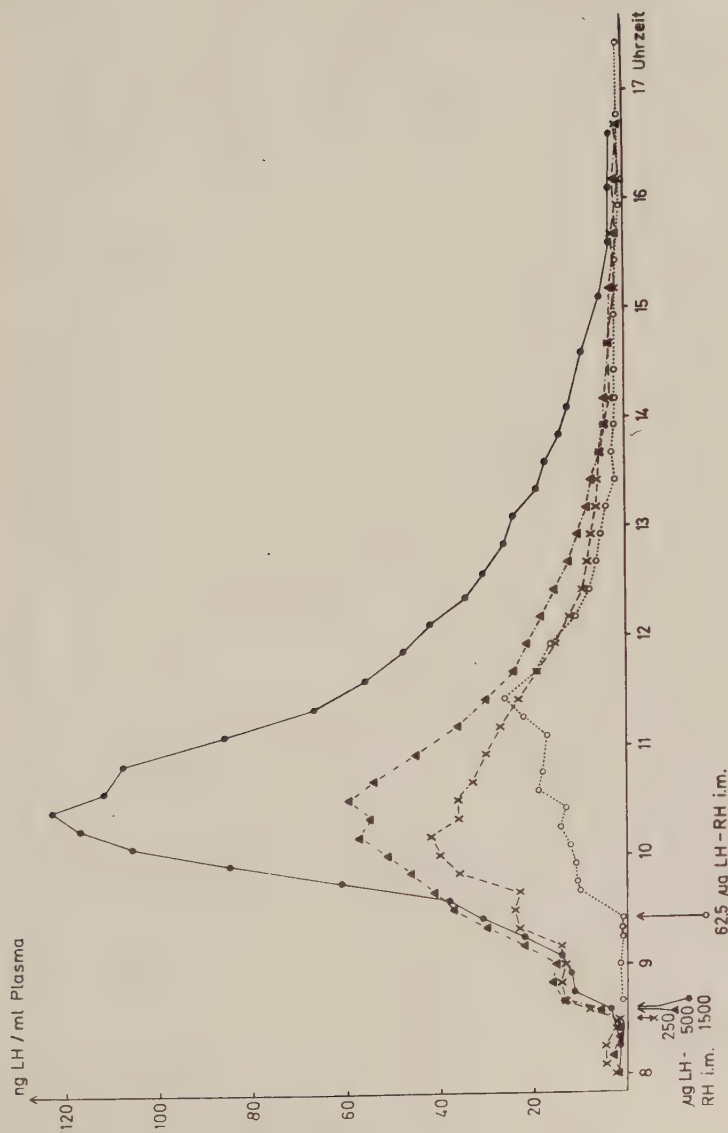


Abb. 8 Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen LH-RH und LH am Beispiel
Bulle Kabine (62,5; 250; 500 und 1500 µg LH-RH i.m. injiziert)

Mit 16 μg LH-RH ist bei diesem Tier die untere Wirkungsgrenze des Releasinghormons erreicht (siehe dazu Abb. 9). Mit zunehmender Dosis von LH-RH werden steigende Mengen LH freigesetzt. Es verlängern sich die Zeiten, in denen die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, die Flächen unter den LH-Kurven werden größer, und die LH-Spitzenwerte liegen höher.

Von der Dosishöhe unabhängig sind im Dosisbereich von 62,5 bis 1500 μg LH-RH, i.m. appliziert, die Zeitintervalle zwischen Injektion und LH-Spitzenwert einerseits, und deutlichem LH-Abfall andererseits.

In der Abb. 8 sind die verschiedenen LH-Kurven des Bullen Kabine wiedergegeben. Es zeigt sich, daß aus einem ursprünglich dreiphasigen LH-Anstieg (nach 62,5 und 250 μg LH-RH) mit steigender Dosis ein einphasiger LH-Anstieg wird (nach 500 und 1500 μg LH-RH). Gleichzeitig verkürzen sich die Zeitspannen zwischen Injektion und LH-Maximum 1. Die LH-Werte der ersten LH-Maxima erweisen sich als von der Dosishöhe unabhängig.

Im Rahmen dieser Versuchsserie bekam der Bulle Kabine 1000 μg LH-RH i.m. injiziert.

Die erhaltene LH-Kurve kann in das Dosiswirkungsschema nicht eingeordnet werden. Alle Werte der LH-RH abhängigen Dosisparameter liegen über jenen nach 1500 μg LH-RH i.m. appliziert. Es fällt auf, daß in diesem Versuch der LH-Kontrollwert sehr hoch ist (siehe dazu Tab.4). 6 Monate nach dieser Versuchsserie wurden dem gleichen Tier ein zweites Mal 1500 μg LH-RH i.m. verabreicht. Aus Tab. 4 geht hervor, daß die Daten der LH-Kurve nach der 1. Injektion von 1500 μg LH-RH deutlich höher liegen.

Tab. 4

Werte verschiedener LH-Kurvenparameter nach i.m. und i.v. Applikation von LH-RH an männliche Rinder

Tier	Dosis LH-RH (μ g)	LH-Ausgangswert (ng/ml Plasma)	LH - Maximum		LH - Spitzenwert		Fläche unter der LH-Kurve (in cm^2)	Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng LH/ml Plasma liegen (Min.)
			Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)	Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)		
Kabine	16 i.m.	1,8	40	3,3	100	3,2	< 1	**
Kabine	62,5 i.m.	1,1	60	12,5	120	26,5	39	225
Kabine	250 i.m.	1,7	40	16,5	100	42,5	73,5	335
Kabine	500 i.m.	1,7	30	15,5	100	55,0	91,5	355
Kabine 1	1500 i.m.	1,6	30	16,5	110	123,0	199,0	440
Kabine 2	1500 i.m.	1,6	25	7,5	125	69,5	112	400
Kabine	1000 i.m.	5,6	30	14,0	120	132,0	210	480
Lado	62,5 i.m.	2,2	40	20,5	110	73,5	108	420
Kalifo 1	1500 i.m.	1,6	- *	-	110	59,0	103	365
Kalifo	1500 i.m.	1,0	- *	-	110	56,0	106	360
Kalifo 2	1500 i.m.	1,1	- *	-	50	4,2	1	5
Kabine	16 i.v.	1,2	- *	-	15	6,4	5	40
Kalifo	75 i.v.	2,6	- *	-	10	11,0	13	55
Kalifo	150 i.v.	1,0	- *	-	35	36,0	63	280
Bulli	300 i.v.	2,5	35	48	115	39,0	***	***

* = Einphasiger LH-Anstieg ** = Die LH-Werte im Plasma steigen nicht über 4 ng/ml

*** = Eine 2. Injektion wurde 65 Minuten nach dem LH-Spitzenwert verabreicht

Kabine 1: Erster Versuch mit 1500 μ g LH-RH i.m. Kabine 2: Zweiter Versuch mit 1500 μ g LH-RH i.m. (5 Monate nach dem Versuch 1)

Kalifo 1, 2: Zweil 1500 μ g LH-RH i.m. injiziert im Abstand von 24 Std.

Dem Bullen Kaliro wurden 62,5 μg und zweimal 1500 μg i.m. appliziert. Mit 62,5 μg wird bei diesem Tier die untere Wirkungsgrenze des Releasinghormons erreicht. Die LH-Reaktion nach 1500 μg ist, verglichen mit jener des Bullen Kabine nach 1500 μg LH-RH i.m., deutlich schwächer. Die LH-Werte gelangen über einen kontinuierlichen Anstieg zum Höchstwert.

Beim Bullen Lado (1500 μg LH-RH i.m.) verläuft der LH-Anstieg zum Spitzenwert zweiphasig. (Die Einzelwerte der LH-Kurven der Bullen Kaliro und Lado sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.)

4.1.4. LH-Freisetzung nach intravenöser Injektion beim männlichen Rind

Der Bulle Kaliro erhielt in 2 Versuchen 75 und 150 μg LH-RH i.v. injiziert. Nach 150 μg wird deutlich mehr LH freigesetzt.

In 2 weiteren Versuchen wurden dem Bullen Kabine 16 μg LH-RH (siehe dazu Abb. 9) und dem Bullen Bulli 300 μg LH-RH i.v. verabreicht. Beim Bullen Bulli ist ein zweiphasiger LH-Anstieg angedeutet. (siehe dazu Abb. 13). Die Einzelwerte aller LH-Kurven sind in der Tabelle 4 wiedergegeben.

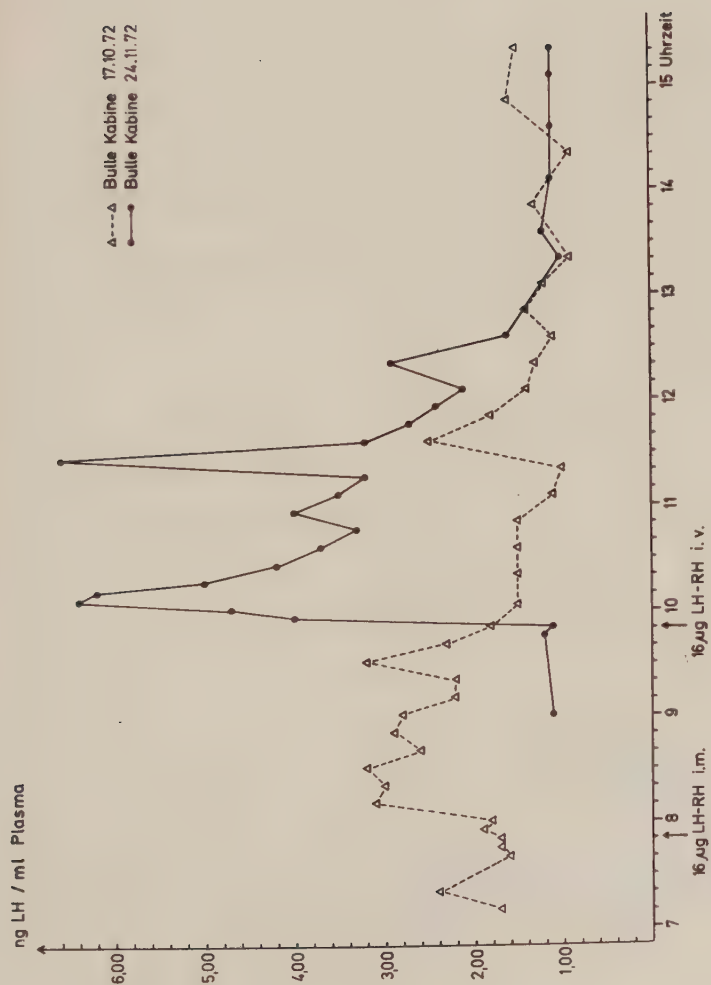


Abb. 9 Einfluß der Applikationsart bei niedrigsten Dosierungen von LH-RH auf die LH-Freisetzung (Bulle Kabine: 16 µg LH-RH i.m. bzw. i.v. verabreicht)

4.2. LH-Freisetzung nach wiederholten Injektionen von LH-RH beim weiblichen und männlichen Tier

Fünf Tiere wurden an einem Tag mit mehreren Injektionen von LH-RH behandelt.

Die Kalbin Roschli bekam am 3. Zyklustag in dreistündlichem Abstand erst 300, dann 600 und zuletzt 900 µg LH-RH i.v. verabreicht.

Ein Vergleich der drei LH-Kurven in der Abb. 10 zeigt, daß trotz steigender LH-RH-Dosierungen die LH-Freisetzung von Injektion zu Injektion abnimmt.

Eine Gegenüberstellung der Werte der einzelnen Kurvenparameter soll dies verdeutlichen:

LH-Spitzenwert:

1. LH-Kurve (300 µg): 15 ng/ml Plasma
2. LH-Kurve (600 µg): 13 ng/ml Plasma
3. LH-Kurve (900 µg): 6,5ng/ml Plasma

Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

1. LH-Kurve: 165 Minuten
2. LH-Kurve: 145 Minuten
3. LH-Kurve: 95 Minuten

Fläche unter der LH-Kurve:

1. LH-Kurve: 14 cm²
2. LH-Kurve: 8,5cm²
3. LH-Kurve: 3 cm²

In den 145 Minuten zwischen dem Spitzenwert der LH-Kurve 1 und der zweiten Injektion fielen die LH-Werte von 15 auf

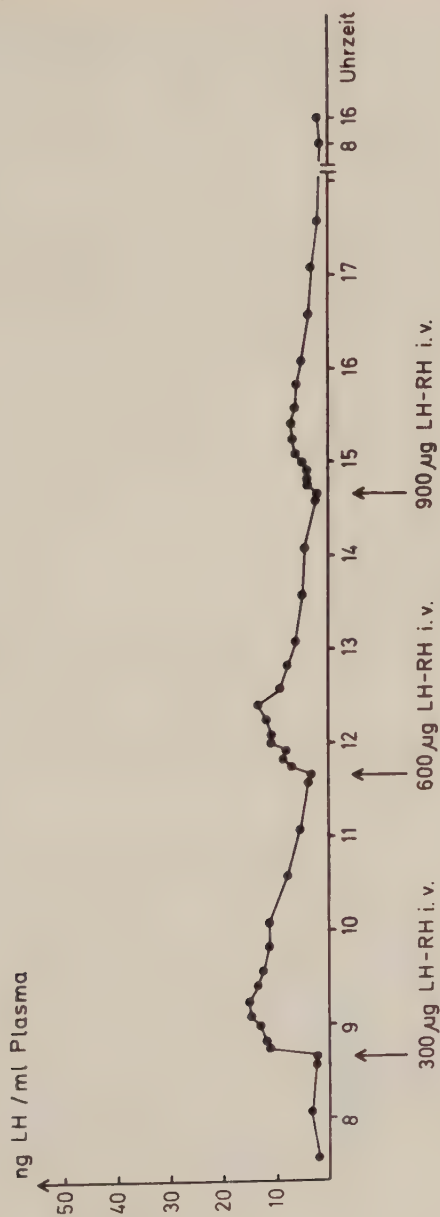


Abb. 10 Auswirkung mehrerer LH-RH-Injektionen pro Tag auf den LH-Spiegel
im Blut
Kalbin Roschli: I.v. Injektion von 300, 600 und 900 µg LH-RH
im Abstand von jeweils 3 Stunden

3 ng/ml Plasma. In den 135 Minuten zwischen dem Spitzenwert der LH-Kurve 2 und der 3. Injektion fielen die LH-Werte von 13 auf 2 ng/ml Plasma.

Damit lagen die LH-Werte vor der 2. und 3. Injektion im Bereich der Ausgangswerte.

Die Kuh Rocki erhielt am 6. Zyklustag im Abstand von 4 1/2 Stunden 600 und 1000 µg LH-RH i.v. injiziert. Die beiden LH-Kurven sind in Abb. 11 wiedergegeben. Auch in diesem Beispiel ist die LH-Freisetzung nach der 2. LH-RH-Verabreichung deutlich schwächer.

LH-Spitzenwert:

1. LH-Kurve (600 µg): 16 ng/ml Plasma
2. LH-Kurve (1000 µg): 4,5ng/ml Plasma

Fläche unter der LH-Kurve:

1. LH-Kurve: 20,5 cm²
2. LH-Kurve: 3,5 cm²

In den 160 Minuten zwischen dem Spitzenwert der LH-Kurve 1 und der 2. Injektion fielen die LH-Werte von 16 auf 3 ng/ml Plasma.

Auch in diesem Beispiel lagen somit die LH-Werte vor der 2. Injektion im Bereich der Ausgangswerte.

Die Kuh Kapi erhielt am 13. Zyklustag 500 µg LH-RH, 115 Minuten später 1000 µg und wiederum 235 Minuten später 2000 µg LH-RH i.v. appliziert.

Der Verlauf der LH-Kurven geht aus der Abb. 12 hervor. Im Gegensatz zum Beispiel Rocki kommt es nach der 2. Injektion zu einer deutlichen Erhöhung der LH-Werte im Plasma. Dabei fallen die Zeitpunkte der 2. Injektion und des Spitzenwertes der LH-Kurve 1 in etwa zusammen. Nach 2000 µg LH-RH wird dagegen nur wenig LH freigesetzt.

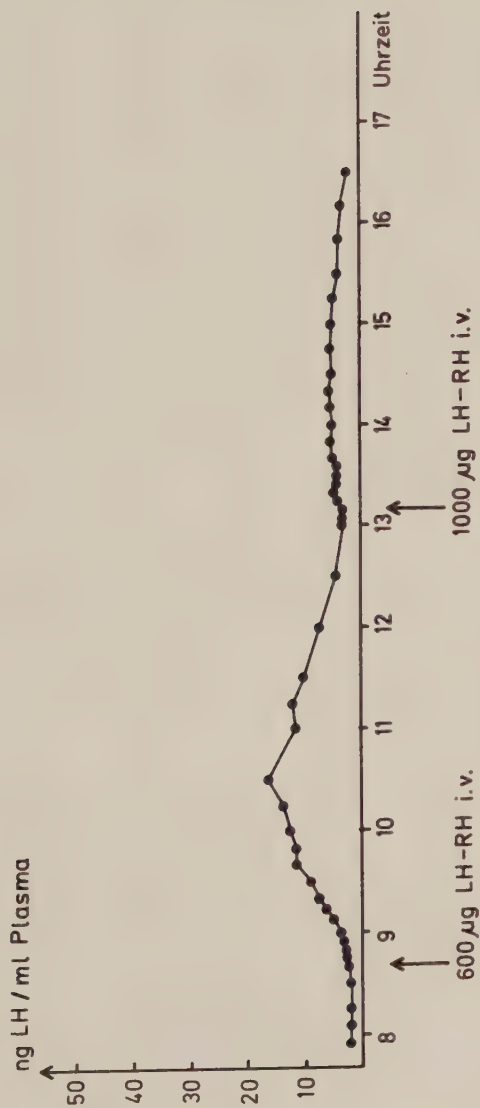


Abb. 11 Auswirkung mehrerer LH-RH-Injektionen pro Tag auf den LH-Spiegel im Blut
Kuh Rocki: I.v. Injektionen von 600 und 1000 µg LH-RH im Abstand von 4 1/2 Stunden

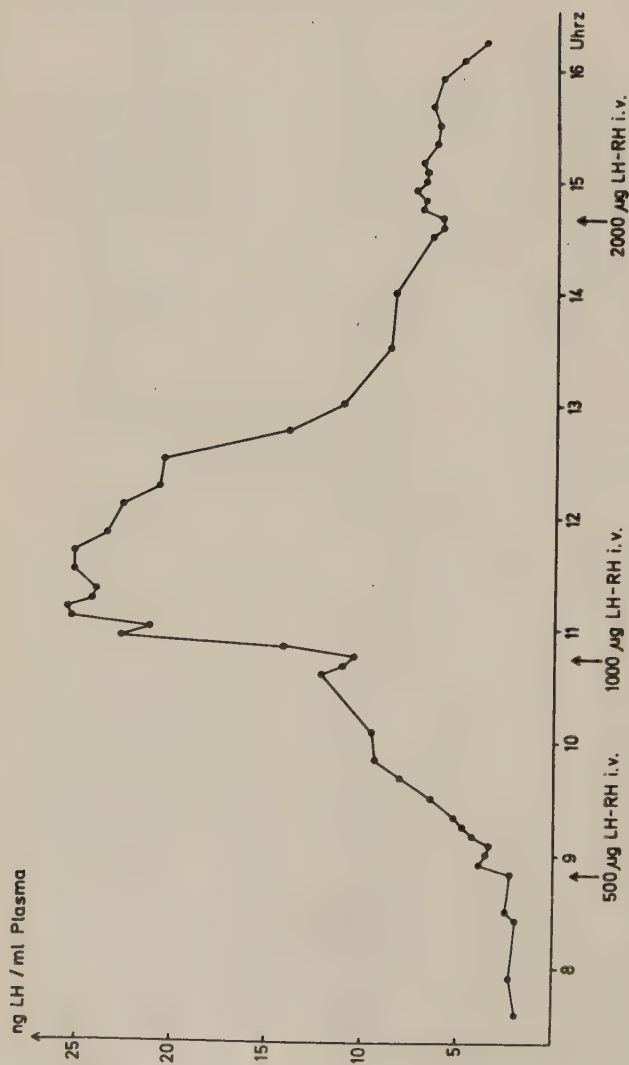


Abb. 12 Auswirkung mehrerer LH-RH-Injektionen pro Tag auf den LH-Spiegel im Blut
 Kuh Kapi: I.v. Injektionen von 500, 1000 und 2000 µg LH-RH am 13. Zykklustag

In den 10 Minuten zwischen dem Spitzenwert der LH-Kurve 1 und der 2. Injektion fielen die LH-Werte von 12,5 auf 10,5 ng/ml Plasma.

In den 95 Minuten zwischen dem Spitzenwert der LH-Kurve 2 und der 3. Injektion fielen die LH-Werte von 25,5 auf 5,5 ng/ml Plasma.

Damit lagen im Beispiel Kapi die LH-Werte vor der 2. Injektion deutlich höher als vor der 3. Injektion.

Der Bulle Bulli erhielt 300, 600 und 900 µg LH-RH i.v. verabreicht, im Abstand von je 180 Minuten. Die gemessenen LH-Werte sind in Abb. 13 wiedergegeben.

Aus dieser Abbildung ist ersichtlich, daß die LH-Werte im Plasma auch nach der 2. Injektion noch ansteigen.

Nach der Applikation der höchsten Dosis kommt es nur zu einer geringen LH-Freisetzung.

In den 65 Minuten zwischen dem Spitzenwert der ersten LH-Kurve und der 2. Injektion fielen die LH-Werte von 39 auf 24 ng/ml Plasma.

In den 135 Minuten zwischen dem Höchstwert der 2. LH-Kurve und der 3. Injektion fielen die LH-Werte von 49 auf 13 ng/ml Plasma.

Somit lagen auch hier die LH-Werte vor der 2. Injektion höher als vor der 3. Injektion.

Drei weiteren Versuchstieren wurde LH-RH im Abstand von 24 und mehr Stunden intramuskulär injiziert.

Die Kalbin Bella bekam an 3 aufeinanderfolgenden Tagen (am 12., 13. und 14. Zyklustag) 250 µg LH-RH i.m. verabreicht.

Aus der Abb. 14 geht hervor, daß am 1. und 3. Versuchs-

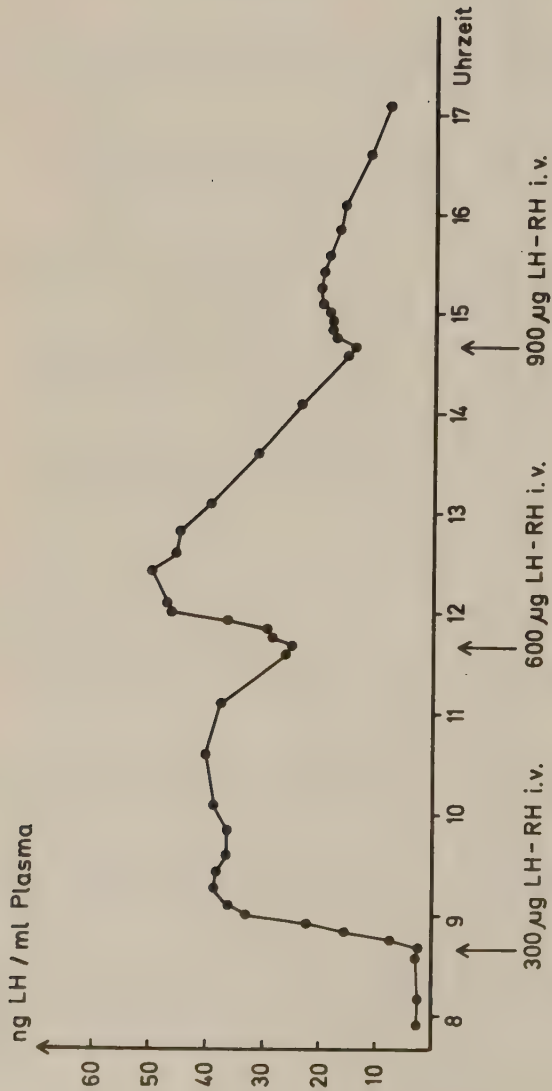


Abb. 13 Auswirkung mehrerer LH-RH-Injektionen pro Tag auf den LH-Spiegel im Blut

Bulle Bulli: I.v. Injektionen von 300, 600 und 900 µg LH-RH im Abstand von jeweils 3 Stunden

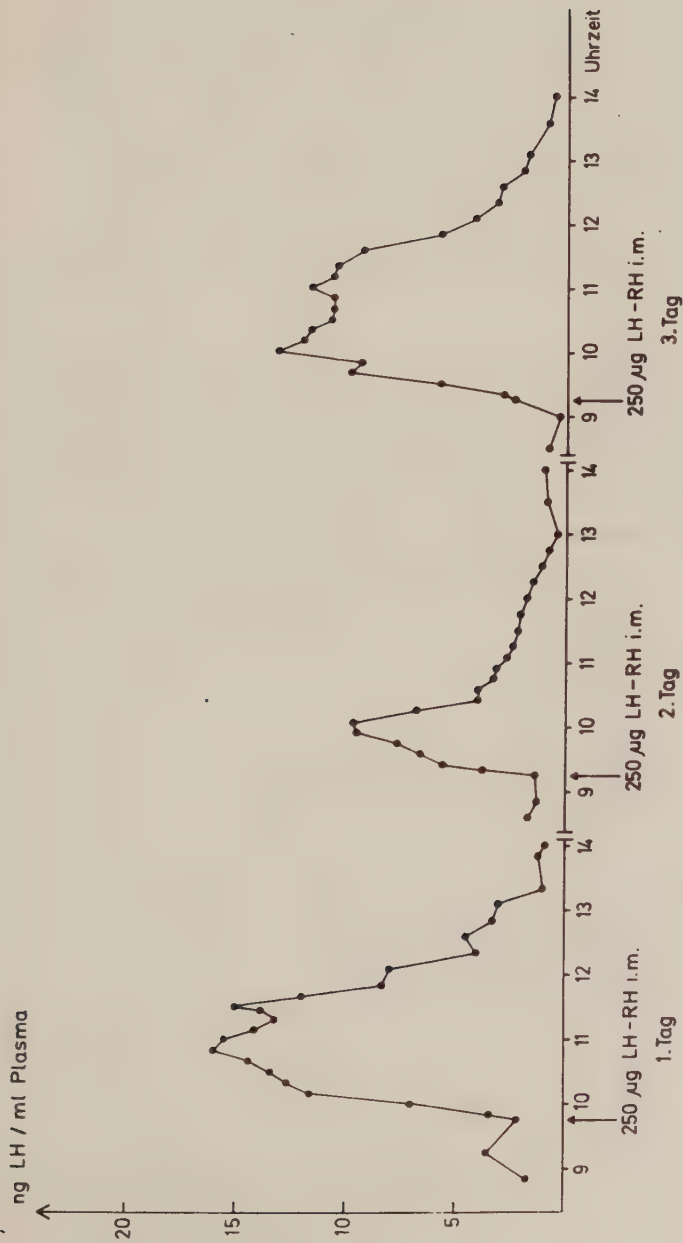


Abb. 14 Einfluß von i.m. Injektionen mittlerer Dosierungen von LH-RH im Abstand von jeweils 24 Stunden auf den LH-Spiegel im Blut
Kalbin Bella: Injektion von 250 µg LH-RH am 12., 13. bzw. 14. Zyklustag

tag annähernd gleiche Mengen LH freigesetzt wurden. Der höhere LH-Spitzenwert des 1. Tages wird durch ein etwas verzögertes Absinken der LH-Werte am Versuchstag 3 ausgeglichen. Auf diese Weise kommen etwa gleich große Flächen unter den LH-Kurven zustande (46 und 44 cm²). Die LH-Werte des 2. Tages liegen deutlich tiefer. Die Fläche unter der LH-Kurve hat nur noch eine Größe von 15,5 cm². Damit ist im Vergleich zu den übrigen beiden Versuchstagen die LH-Freisetzung auffallend abgesunken.

Die Kuh Bruni erhielt am 13., 14. und 15. Zyklustag im Abstand von 24 Stunden je 1500 µg LH-RH i.m. injiziert. Die Gegenüberstellung der LH-Kurven in Abb. 15 zeigt, daß nach der 1. Injektion die erwartete Menge LH freigesetzt wird. Am 2. und 3. Versuchstag kommt es zu einer auffälligen Depression der LH-Freisetzung. Stellt man die Werte der einzelnen Kurvenparameter einander gegenüber, so zeigt sich, daß die freigesetzte LH-Menge des 3. Tages noch einmal deutlich unter jener des 2. Versuchstages liegt:

LH-Höchstwert:

- 13. Zyklustag: 62 ng/ml Plasma
- 14. Zyklustag: 9 ng/ml Plasma
- 15. Zyklustag: 6,5ng/ml Plasma

Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

- 13. Zyklustag: 405 Minuten
- 14. Zyklustag: 250 Minuten
- 15. Zyklustag: 90 Minuten

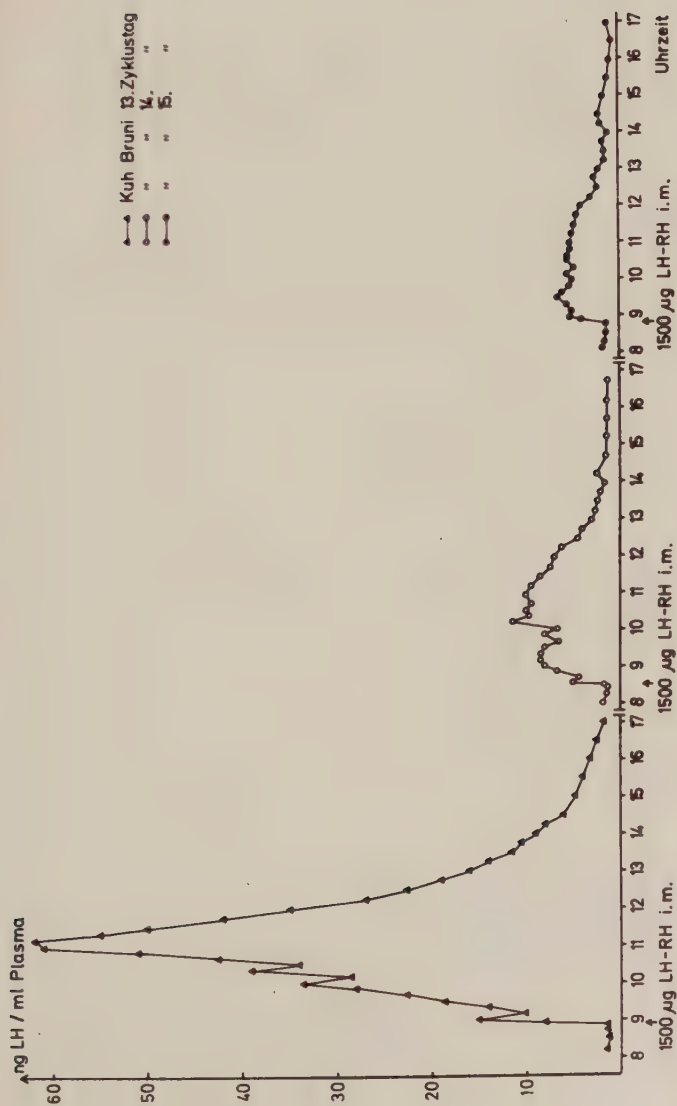


Abb. 15 Einfluß von i.m. Injektionen hoher Dosierungen von LH-RH im Abstand von jeweils 24 Stunden
Kuh Bruni: Injektion von 1500 µg LH-RH am 13., 14. bzw. 15. Zyklustag

Fläche unter der LH-Kurve:

- 13. Zyklustag: 108 cm^2
- 14. Zyklustag: 29 cm^2
- 15. Zyklustag: 10 cm^2

Versuche an der Kuh Kalidip (zweimal $1500 \text{ } \mu\text{g}$ LH-RH i.m. am 5. und 6. Zyklustag, siehe Abb. 16) und am Bullen Kaliro (dreimal $1500 \text{ } \mu\text{g}$ LH-RH i.m. im Abstand von je 24 Stunden, siehe Abb. 17) brachten ähnliche Ergebnisse.

Der Bulle Kaliro erhielt in einer Versuchsserie am 1., 3. und 7. Versuchstag je $1500 \text{ } \mu\text{g}$ LH-RH i.m. injiziert (siehe Abb. 18). Eine Gegenüberstellung der einzelnen Kurvenparameter zeigt folgendes Bild:

LH-Spitzenwert:

- 1. Tag: 56 ng/ml Plasma
- 3. Tag: 23 ng/ml Plasma
- 7. Tag: 32 ng/ml Plasma

Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

- 1. Tag: 360 Minuten
- 3. Tag: 345 Minuten
- 7. Tag: 300 Minuten

Fläche unter der LH-Kurve:

- 1. Tag: 106 cm^2
- 3. Tag: 46 cm^2
- 7. Tag: 41 cm^2

Daraus folgt, daß die LH-Ausschüttung des 1. Versuchstages nicht wieder erreicht wurde.

Aus einem einphasigen LH-Anstieg nach der 1. Injektion

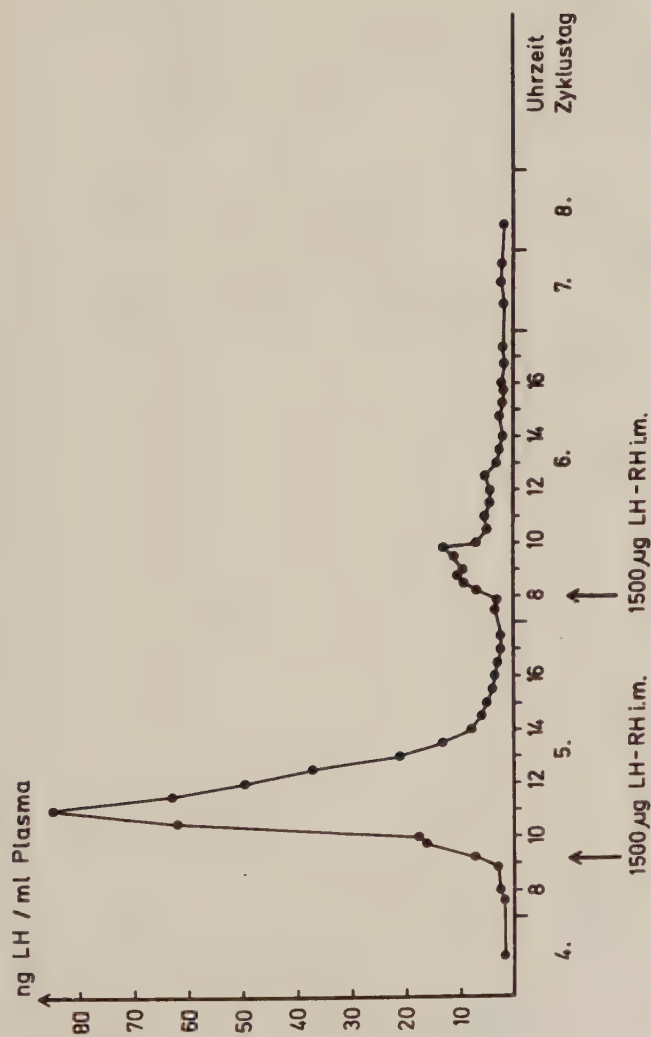


Abb. 16 Einfluß von i.m. Injektionen hoher Dosierungen von LH-RH im Abstand von 24 Stunden auf den LH-Spiegel im Blut
Kuh Kalidip: Injektion von 1500 µg LH-RH am 5. bzw. 6. Zyklustag

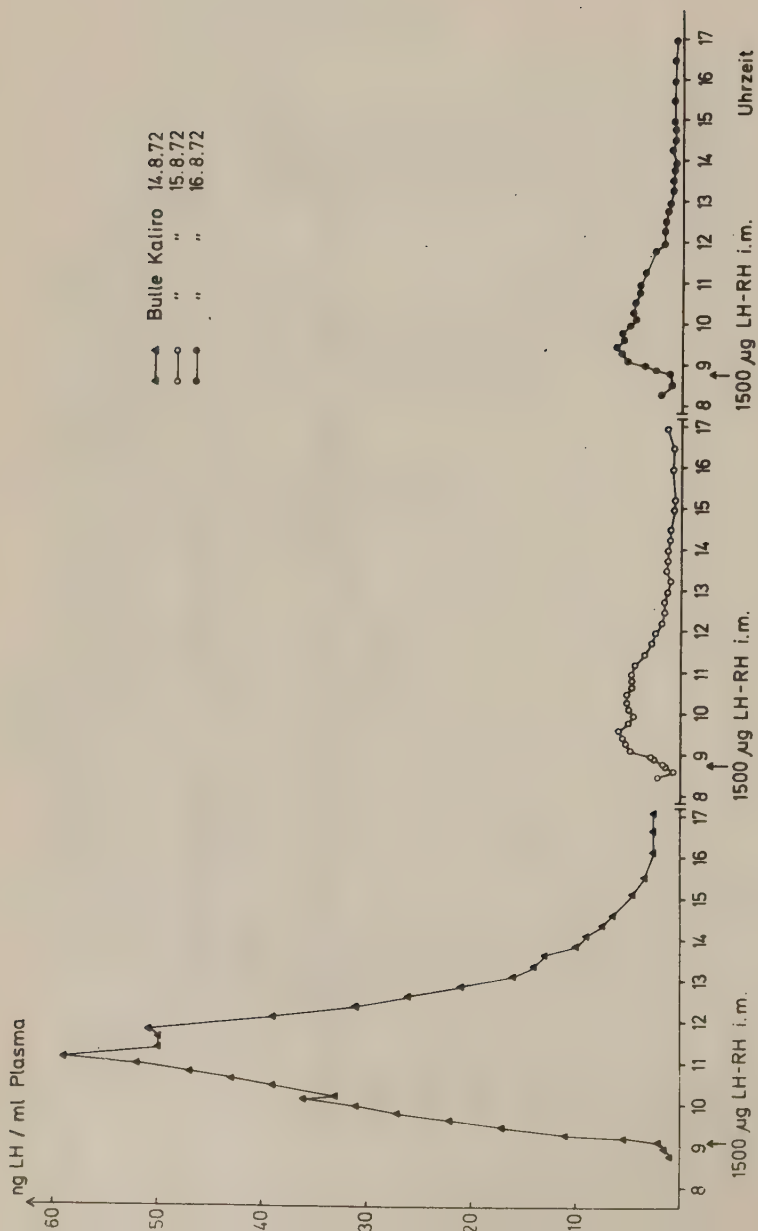


Abb. 17 Einfluß von i.m.-Injektionen hoher Dosierungen von LH-RH im Abstand von je 24 Stunden auf den LH-Spiegel im Blut

Bulle Kaliro: Jeweils eine Injektion von 1500 µg LH-RH an 3 aufeinanderfolgenden Tagen

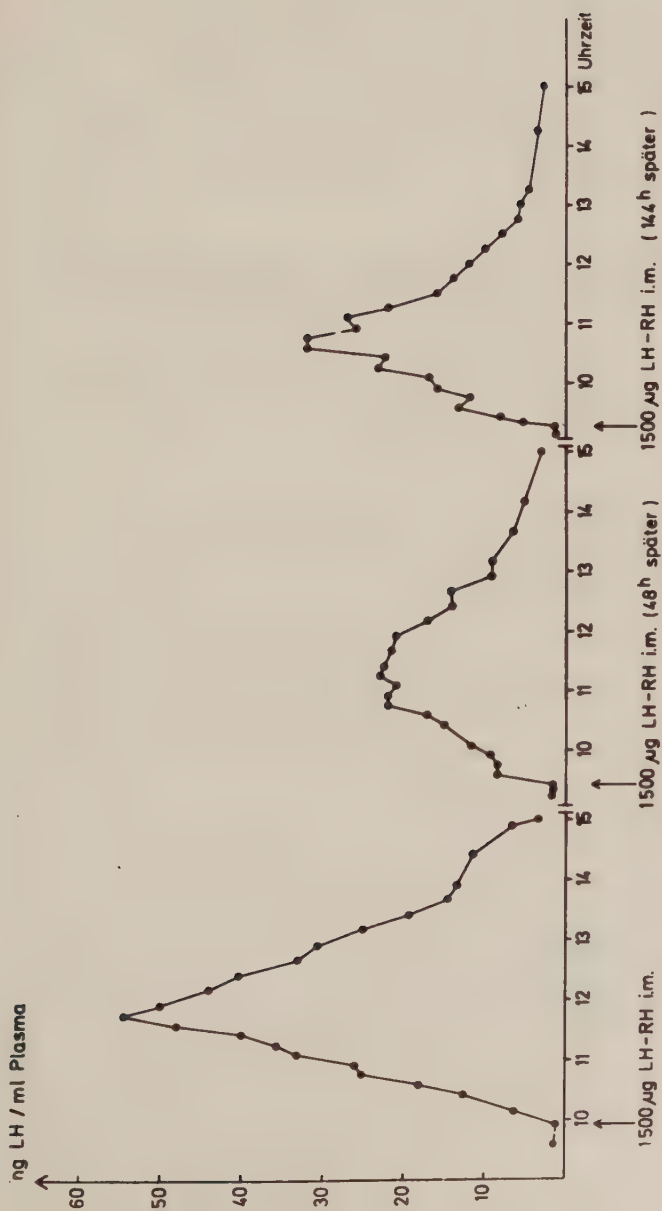


Abb. 18 Einfluß von i.m. Injektionen hoher Dosierungen von LH-RH (1500 µg) am 1., 3. und 7. Tag auf den LH-Spiegel im Blut (Bulle Kaliro)

wird ein unregelmäßiger, schwächerer LH-Anstieg nach der 3. Injektion. Am Versuchstag 2 erreichen die LH-Werte über ein LH-Maximum 1 (= biphasischer LH-Anstieg) den niedrigsten LH-Spitzenwert aller drei LH-Kurven. Die LH-Werte der 3 Kurven, die 10 Minuten nach den Injektionen festgestellt wurden, unterscheiden sich kaum voneinander.

4.3. LH-Freisetzung nach gleichen Dosierungen von LH-RH in Abhängigkeit von verschiedenen Zyklusphasen

4.3.1. Gesamte LH-Freisetzung nach Injektionen von LH-RH in Abhängigkeit von verschiedenen Zyklusphasen

Im Zusammenhang mit der Frage nach dem Einfluß verschiedener Zyklusphasen auf die LH-Freisetzung wurden folgende Versuche durchgeführt:

Die Kuh Bruni erhielt während eines Zyklus am 5., 11. und 18. Zyklustag je 62,5 µg LH-RH i.m. injiziert. Die Veränderungen des LH-Spiegels im Blut gehen aus Abb. 19 und Tab. 2 hervor. Es zeigt sich, daß in dieser Versuchsserie die LH-Freisetzung des 5. Zyklustages am stärksten, die des 11. am schwächsten war.

Dem gleichen Tier wurden auch noch während eines anderen Zyklus am 5., 11. und 18. Zyklustag je 500 µg LH-RH i.m. verabreicht.

Am 5. Zyklustag liegen der LH-Spitzenwert, die Zeitspanne, in der sich die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma bewegen, und die Fläche unter der LH-Kurve etwas höher als an den übrigen Zyklustagen.

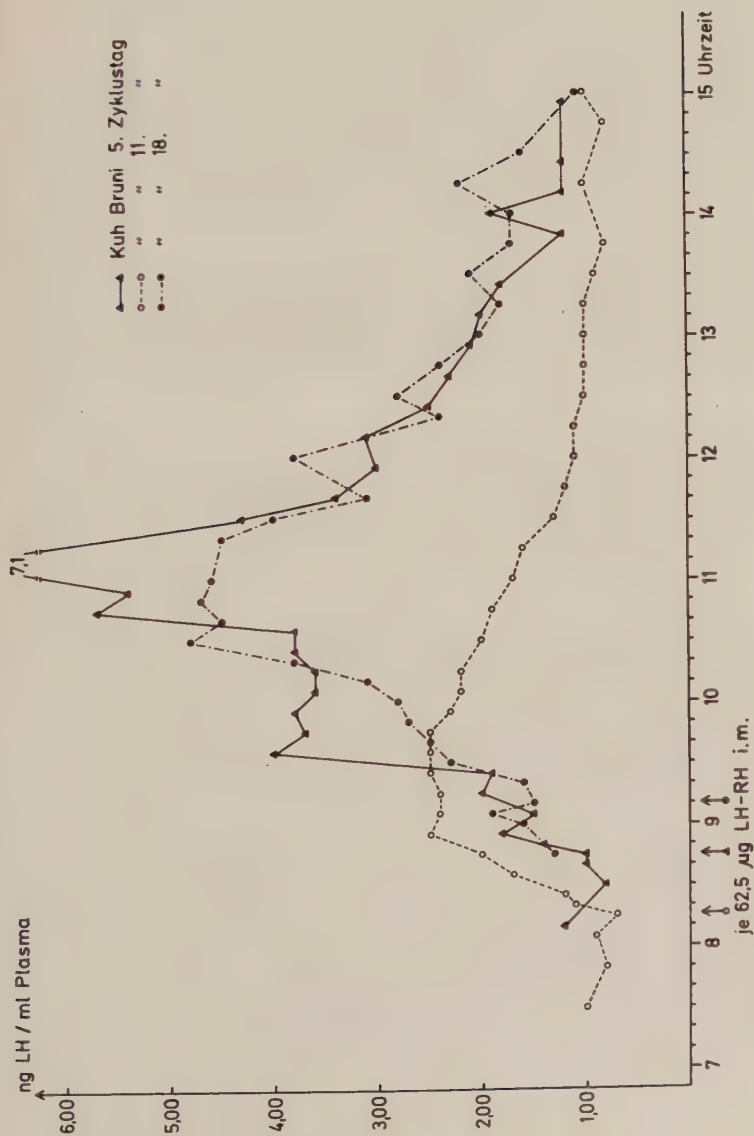


Abb. 19 Unterschiedliche LH-Freisetzung nach gleichen Dosierungen von LH-RH an verschiedenen Zyklustagen
Kuh Bruni: Injektion von 62,5 µg LH-RH am 5., 11. und 18. Zyklustag

Die LH-Kurven des 11. und 18. Zyklustag unterscheiden sich kaum voneinander (siehe Tab. 2).

Die Kuh Hell bekam in 2 aufeinanderfolgenden Zyklen am 6. und 11. Zyklustag je 250 μ g LH-RH i.m. verabreicht. Aus den Kurvendaten, die in der Tab. 2 zusammengefaßt sind, geht hervor, daß bei ihr am 11. Zyklustag etwas mehr LH freigesetzt wurde als am 6. Zyklustag.

Die Kuh Laro erhielt in 2 aufeinanderfolgenden Zyklen am 6. und 11. Zyklustag je 500 μ g LH-RH i.m. injiziert. An beiden Tagen wurden annähernd gleiche Mengen LH freigesetzt (siehe Tab. 2).

4.3.2. LH-Zunahme im Plasma in der Anfangsphase der LH-Freisetzung nach Verabreichung von LH-RH in Abhängigkeit von verschiedenen Zyklusphasen

Nach i.v. oder i.m. Verabreichung von LH-RH steigen die LH-Werte entweder kontinuierlich langsam bis zum ersten LH-Maximum oder es wird in den ersten 5 bis 10 Minuten nach der Injektion mehr LH freigesetzt, als in der folgenden halben Stunde.

Im letzteren Fall entsteht so der Eindruck eines LH-Kurvenabsatzes 5 oder 10 Minuten nach der Injektion (vergleiche Abb. 7 und Abb. 12).

Wertet man das gesamte Versuchsmaterial auf diese Kurvenunregelmäßigkeit hin aus, so zeigt sich:

In allen 7 Versuchen um den 12. Zyklustag mit Dosierungen

über 500 μg LH-RH treten 5 bis 10 Minuten nach der Injektion Kurvenabsätze auf.

In 6 von 7 Versuchen am 6. Zyklustag mit Dosierungen über 500 μg LH-RH steigen die LH-Werte zum Maximum 1 kontinuierlich an.

Nach Dosierungen unter 500 μg LH-RH ergibt sich kein einheitliches Bild.

4.4. LH-Freisetzung nach einer Östrogeninfusion mit anschließender LH-RH-Injektion

Der Kuh Bruni wurden am 6. Zyklustag über einen Zeitraum von 2 Stunden 3 mg 17 β -Östradiol infundiert.

Unmittelbar danach erhielt sie 1500 μg LH-RH i.m. verabreicht.

In Abb. 20 sind die LH-Kurven nach 1500 μg LH-RH mit vorangegangener Infusion und nach alleiniger Verabreichung von 1500 μg LH-RH (siehe auch Tab. 2) einander gegenübergestellt.

Aus dieser Abbildung geht hervor, daß die LH-Freisetzung nach 1500 μg LH-RH ohne Infusion stärker war. Ein Vergleich der Werte einzelner Kurvenparameter macht dies deutlich:

LH-Spitzenwert:

Ohne Östrogeninfusion: 62 ng/ml Plasma

Mit vorangegangener Östrogeninfusion: 51 ng/ml Plasma

Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

Ohne Infusion: 405 Minuten

Mit Infusion: 390 Minuten

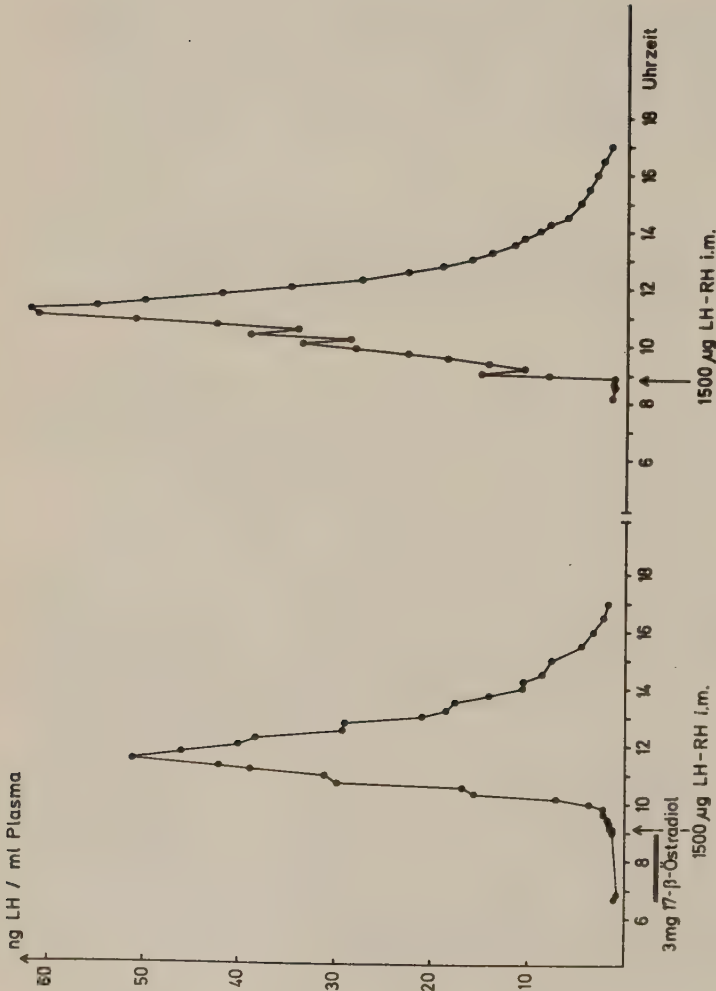


Abb. 20 Auswirkung einer Infusion hoher Östrogenmengen mit anschließender i.m. Verabreichung von 1500 µg LH-RH auf die LH-Freisetzung (Kuh Bruni)

Flächen unter der LH-Kurve:

Ohne Infusion: 107 cm^2

Mit Infusion: 91 cm^2

Damit liegt die gesamte LH-Freisetzung nach 1500 µg LH-RH ohne Infusion höher.

Aus einem mehrphasigen LH-Anstieg der Kurve nach 1500 µg LH-RH ohne Östrogeninfusion wird eine biphasische LH-Zunahme im Plasma nach 1500 µg LH-RH mit Östrogeninfusion. Dabei steigen nach der Infusion die LH-Werte nur sehr langsam bis zum Maximum 1 an.

4.5. Beeinflussung der Ovarfunktion (Auslösung von Ovulationen) nach Applikation von LH-RH

4.5.1. Versuche zur Ovulationsauslösung während verschiedener Zyklusphasen

In 19 Versuchen bekamen 12 Tiere LH-RH im Dosisbereich von 50 bis 2000 µg LH-RH i.v. oder i.m. verabreicht. Sie wurden am 3., 5., 6., 8., 11., 12., 13. und 18. Zyklustag mit dem Releasinghormon behandelt.

4.5.1.1. Veränderungen am Ovar und Absonderung von Schleim im Zusammenhang mit der LH-RH-Applikation

Die klinischen Versuchsergebnisse, Veränderungen am Ovar und Absonderung von Schleim nach der LH-RH-Applikation, sind in den Tabellen 5 und 6 im einzelnen aufgeführt.

Zusammenfassend geht aus diesen Tabellen hervor:

In 4 von 5 Versuchen nach i.m. Applikation hoher Dosierungen von LH-RH (ab 1000 μ g LH-RH) wurden Follikel angebildet. In der Mehrzahl der Versuche mit 250 und 500 μ g LH-RH i.m. waren schon vor Versuchsbeginn Follikel vorhanden. Eine Aussage über das Vermögen von LH-RH in diesem Dosisbereich Follikel anzubilden wird dadurch eingeschränkt. Das Beispiel Hell (250 μ g LH-RH i.m. am 6. Zyklustag) beweist jedoch, daß auch 250 μ g LH-RH i.m. verabreicht, Follikelwachstum am Ovar anregen können. Darüber hinaus sind 250 und 500 μ g LH-RH i.m. in der Lage, die Konsistenz vorhandener Follikel zu verändern. So konnten z.B. bei den Rindern Bella und Bruni vor Versuchsbeginn harte Follikel palpiert werden. Nach der LH-RH-Verabreichung zeigten diese Follikel deutliche Fluktuation.

(Über die Konsistenz- und Größenänderungen der Follikel im einzelnen siehe Tab. 6).

Nach Injektionen hoher oder mittlerer Dosierungen von LH-RH über mehrere Tage wurden an den Follikeln ähnliche Konsistenz- und Größenänderungen beobachtet. Am Beispiel Bruni (1500 μ g LH-RH i.m. am 13., 14. und 15. Zyklustag) wird dies deutlich. Nach der ersten Injektion entstand während des Versuchstages ein etwa bohngroßer, harter Follikel, der am 2. Versuchstag vor der Injektion fest-weich war, 7 Stunden später jedoch stark fluktuierte. Vor der 3. Injektion war er erbsengroß, hart, am Abend wiederum bohngroß und weich.

Ähnliche Follikelveränderungen konnten bei der Kalbin Bella nach 250 μ g LH-RH i.m. am 12., 13. und 14. Zyklustag festgestellt werden.

Tab. 5

Veränderungen am Ovar und Absonderung von Schleim nach i.v. und i.m.

Applikation von LH-RH während des Zyklus

Tier	Zyklustag	Dosis LH-RH(μ g)	Follikelanbildung	Abgang von Schleim	Ovulation
Roja	12.	50 i.v.	-	-	-
Bruni	5.	62,5 i.m.	-	-	-
Bruni	11.	62,5 i.m.	-	-	-
Bruni	18.	62,5 i.m.	-	-	-
Hell	6.	250 i.m.	++	+	-
Hell	11.	250 i.m.	+	+	-
Bella	12.	250 i.m.	+	+	-
Roschli	3.	300 i.v.	-	-	-
Kalidip	13.	300 i.v.	-	-	-
Nany	12.	500 i.v.	-	-	-
Kapi	13.	500 i.v.	-	-	-
Laro	6.	500 i.m.	+	-	-
Laro	11.	500 i.m.	+	+	-
Bruni	5.	500 i.m.	+	+	-
Bruni	11.	500 i.m.	+	+	-
Bruni	18.	500 i.m.	++	+	?
Rocki	6.	600 i.v.	-	-	-
Kapi	6.	1000 i.m.	++	-	-
Kalma	6.	1500 i.m.	++	+	-
Bruni	13.	1500 i.m.	+	+	-
Kalidip	5.	1500 i.m.	-	+	-
Ciba	8.	1500 i.v.	++	+	-
Kakdon	11.	2000 i.m.	+++	+	-

+ = Größenzunahme eines vorhandenen Follikels

++ = Neubildung eines Follikels

+++ = Neubildung mehrerer Follikel

? = Ovulation wahrscheinlich

Tab. 6

Veränderungen der Größe und Konsistenz von Follikeln nach i.v. oder i.m.

Applikation von LH-RH während des Zyklus

Tier	Zyklus- tag	Dosis LH-RH (µg)	Größe und Konsistenz der Follikel				
			vor der Injektion	Std. nach der Injektion			
				2	5	8	24
Hell	6.	250 i.m.	*			2 b	1 b
Hell	11.	250 i.m.	1 b **			2 b	1 b
Bella	11.	250 i.m.	1 e **			2 b	1 e
Laro	6.	500 i.m.	1 b **			2 b	1 b
Laro	11.	500 i.m.	1 k **			2 k	1 k
Bruni	5.	500 i.m.	2 e **	3 b		2 b	2 b
Bruni	12.	500 i.m.	1 e **	2 e		1 e	1 e
Bruni	18.	500 i.m.	*		1 e	2 e	2 e
Kapi	6.	1000 i.m.	*			1 e	1 e
Kalma	6.	1500 i.m.	*		1 e	2 e	1 e
Ciba	8.	1500 i.v.	*			1 e	
Bruni	13.	1500 i.m.	*	1 b		3 b	2 b
Kakdon	11.	2000 i.m.	*	1 b		1 b	1 b

Follikelgröße:

e = erbsengroß

b = bohngroß

k = kirschgroß

Follikelkonsistenz:

1 = hart

2 = festweich

3 = weich

* = neugebildeter Follikel

** = vor der Injektion vorhandener Follikel

Nur in einem Fall wurde Follikelwachstum nach i.v. Verabreichung von LH-RH beobachtet und zwar nach intravenöser Injektion von 1500 µg LH-RH.

Follikel bildeten sich an Ovarien mit und ohne Funktionsgebilde.

Die weitere Entwicklung der Follikel war in allen Fällen gleich: Die Follikel atresierten. Sie konnten in der Regel 48 Stunden nach der Injektion nicht mehr identifiziert werden. Die Zykluslängen veränderten sich nicht.

Im Zusammenhang mit diesen letzten Beobachtungen bildet die Kuh Bruni eine Ausnahme.

Das Tier wurde in zwei aufeinanderfolgenden Zyklen erst mit 62,5 , dann mit 500 µg LH-RH i.m. am 5., 11. und 18. Zyklustag behandelt. Die Versuchsergebnisse der ersten 5 Versuche gehen aus den Tabellen 5 und 6 hervor.

Nach 500 µg LH-RH, i.m. injiziert, am 18. Zyklustag, entstand ein erbsengroßer, fest-weicher Follikel. Er konnte noch 24 Stunden nach der Injektion palpiert werden; 24 Stunden später war er nicht mehr vorhanden.

Folgende Beobachtungen sprechen für eine Ovulation in der Zeit zwischen 24 und 48 Stunden nach der Injektion:

In den Tagen um den erwarteten Brunsttermin (3 Tage nach der Injektion) entstanden keine neuen Follikel.

Das Tier zeigte zum erwarteten Brunsttermin keine äußeren Brunstsymptome, obwohl sie bei diesem Tier sonst deutlich ausgeprägt sind.

14 Tage nach der Injektion konnte an der Stelle des Follikels ein Gelbkörper festgestellt werden.

Das Tier rinderte 20 Tage nach der Injektion.

Während der beiden Behandlungszyklen und in den ersten 20 Tagen nach der letzten Injektion wurden bei dem Tier Blutproben genommen. Die Ergebnisse der Progesteron- und

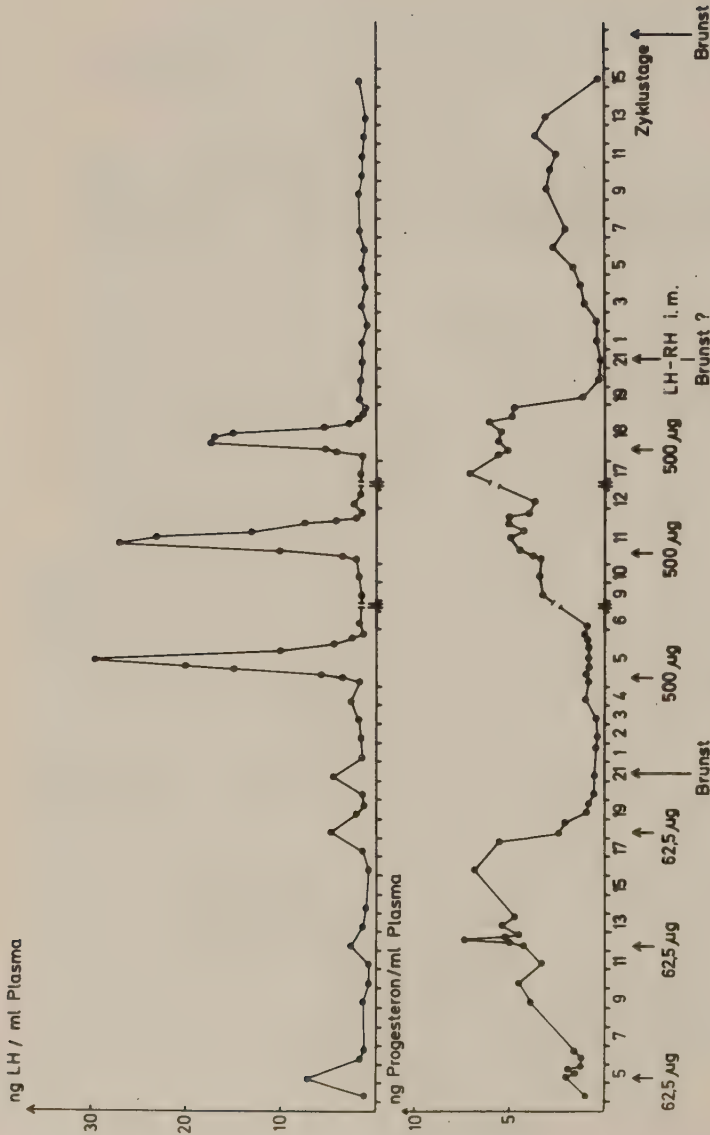


Abb. 21 Progesteron- und LH-Werte der Kuh Bruni, gemessen während dreier aufeinanderfolgender Zyklen
 1. Zyklus: I.m. Injektion von 62,5 µg LH-RH am 5., 11. bzw. 18. Zyklustag
 2. Zyklus: I.m. Injektion von 500 µg LH-RH am 5., 11. bzw. 18. Zyklustag
 Der 3. Zyklus schließt sich an die 3. Injektion von 500 µg LH-RH an

LH-Bestimmungen dieser Blutproben sind in Abb. 21 wiedergegeben.

Die Progesteronwerte zeigen, daß nach der letzten Injektion ein etwas verkürzter Zyklus abgelaufen ist. Die Progesteronwerte des 3. Zyklus sind dabei niedriger als die Progesteronwerte der beiden vorangegangenen Zyklen.

4.5.1.2. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginalschleims in Abhängigkeit von LH-RH-Injektionen

In 15 von 17 Versuchen nach Dosierungen von 62,5 bis 2000 μg LH-RH i.m. oder i.v. injiziert, ging der Widerstand des Vaginalschleims zurück. Die Ohmwerte fielen in der ersten Stunde nach der Injektion ab. 6 bis 7 Stunden später lagen sie in der Regel höher, gelangten jedoch erst am nächsten Tag wieder in den Bereich der Kontrollwerte. In einigen Versuchen wurden die Ausgangswerte nicht mehr erreicht. Während eines Versuchstages schwankten die Meßwerte stark.

In 3 Versuchen, jeweils am 6. Zyklustag, veränderten sich die Ohmwerte kaum oder zeigten steigende Tendenz (Einzelwerte siehe Tab. 7).

4.5.1.2.1. Veränderung des elektrischen Widerstandes nach verschiedenen Dosierungen von LH-RH beim gleichen Tier

Tab. 7

Veränderung des elektrischen Widerstandes des Vaginalsekrets nach i.m. und i.v.

Applikation von LH-RH

Tier	Zyklus- tag	Dosis LH-RH (µg)	Ausgangs- wert (Ohm)	Ohmwerte: Stunden nach der Injektion										
				1	2	3	4	5	6	8	24	48		
Bruni	5.	62,5 i.m.	40	38	-	39	40	43	41	39	40	-		
Bruni	11.	62,5 i.m.	51	47	48	51	47	47	47	48	49	-		
Bruni	18.	62,5 i.m.	53	50	50	43	-	45	45	45	41	37		
Hall	6.	250 i.m.	40	40	46	43	44	40	-	40	46	46		
Hall	11.	250 i.m.	46	31	36	41	40	-	41	44	42	45		
Kalidip	13.	300 i.v.	55	45	48	45	50	45	-	48	53	-		
Laro	6.	500 i.m.	43	49	42	44	48	49	-	50	50	-		
Laro	11.	500 i.m.	50	50	48	41	49	42	52	47	51	-		
Bruni	5.	500 i.m.	42	37	39	36	38	38	39	37	43	-		
Bruni	11.	500 i.m.	48	46	48	42	43	44	43	46	48	-		
Kapi	6.	1000 i.m.	45	-	38	-	-	42	-	44	45	-		
Kalidip	5.V ₁	1500 i.m.	58	45	-	42	-	47	-	58	58	-		
Kalidip	6.V ₁	1500 i.m.	58	45	55	-	46	-	-	48	48	58		
Kalma	6.	1500 i.m.	53	45	-	40	-	42	-	43	53	-		
Ciba	8.	1500 i.v.	40	-	-	36	-	-	-	41	41	-		
Bruni	13.V ₂	1500 i.m.	51	41	42	38	-	32	43	40	41	-		
Bruni	14.V ₂	1500 i.m.	41	38	38	-	36	-	-	36	39	-		
Bruni	15.V ₂	1500 i.m.	39	32	36	37	33	-	-	36	42	38		
Kakdon	11.	2000 i.m.	52	-	38	-	39	-	-	41	41	49		
Zanzi*	a	1500 i.m.	50	46	-	34	37	-	35	39	35	36		
Zanzi*	b	1500 i.m.	44	42	35	33	33	43	35	43	44	40		
Sasi*	c	1500 i.m.	54	51	54	53	-	46	-	46	45	45		
Roschli*	d	1500 i.m.	44	-	35	35	-	-	40	38	35	40		
Rocki-M	d	1500 i.m.	47	39	32	39	42	-	-	42	41	44		

V₁ = 2 Versuche im Abstand von je 24 Std.

V₂ = 3 Versuche im Abstand von je 24 Std.

* = Versuch nach Enukleation

a = Teilenukulation

b = Ovarienbildung 6 Tage nach dem Versuch

c = Gelbkörperentfernung ohne anschließende Ovulation

d = Gelbkörperentfernung mit anschließender Ovulation

Ein Vergleich der Meßdaten der Kuh Bruni nach 62,5; 500 und 1500 μg LH-RH jeweils am 12. Zyklustag deutet eine Wechselbeziehung zwischen Widerstandsänderung und Dosishöhe an. Trotz etwas differierender Kontrollwerte geht aus Abb. 22 hervor, daß der Widerstand des Vaginalschleims mit steigenden Dosierungen von LH-RH stärker absinkt.

4.5.1.2.2. Veränderung des elektrischen Widerstandes nach gleich hohen Dosierungen von LH-RH beim gleichen Tier während verschiedener Zyklusphasen

Das Beispiel Bruni (62,5 μg LH-RH am 5., 11. und 18. Zyklustag) zeigt, daß sich der elektrische Widerstand des Vaginalschleims in verschiedenen Zyklusphasen nach gleich hohen Dosierungen von LH-RH nicht einheitlich verhält. Während sich die Ohmwerte 3 Tage vor der Brunst am auffälligsten vermindern, ändern sie sich 6 Tage nach der Brunst kaum bzw. zeigen eher steigende Tendenz. Am 11. Zyklustag sinken sie weniger stark ab als am 18. Zyklustag.

Am 18. Zyklustag steigt der elektrische Widerstand 24 Stunden nach der Injektion nicht mehr an. Im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen in den übrigen Zyklusphasen verlieren die Ohmwerte weiter an Höhe und erreichen 3 Tage später einen Tiefstwert von 30 Ohm (siehe dazu Abb. 23).

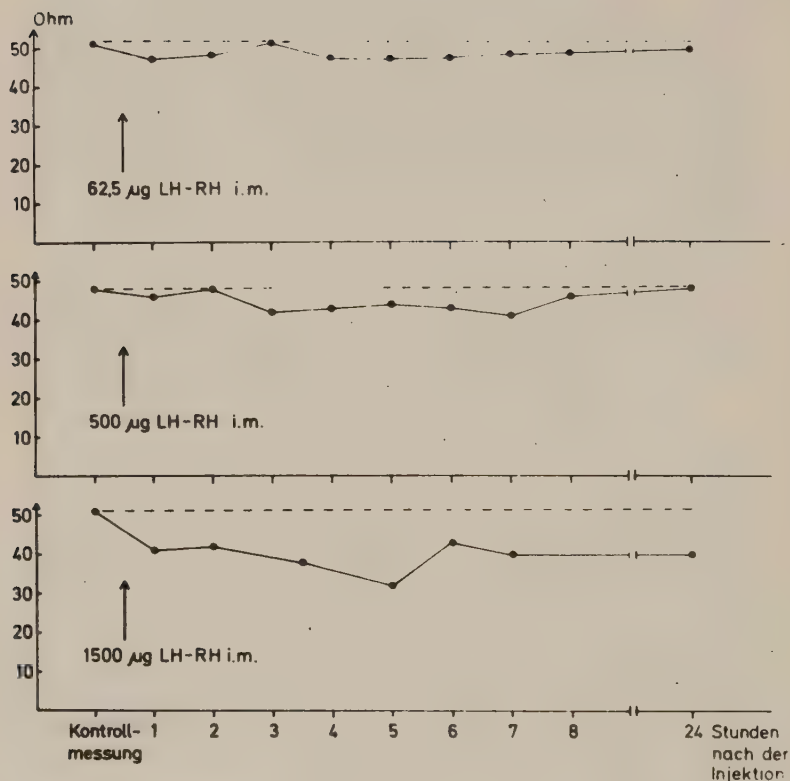


Abb. 22 Änderung des elektrischen Widerstandes des Vaginalschleims in Abhängigkeit von der Dosishöhe des LH-Releasinghormons
Kuh Bruni: I.m. Injektion von 62,5 (obere Abbildung); 500 (mittlere Abbildung) bzw. 1500 µg LH-RH (untere Abbildung) am 12. Zyklustag

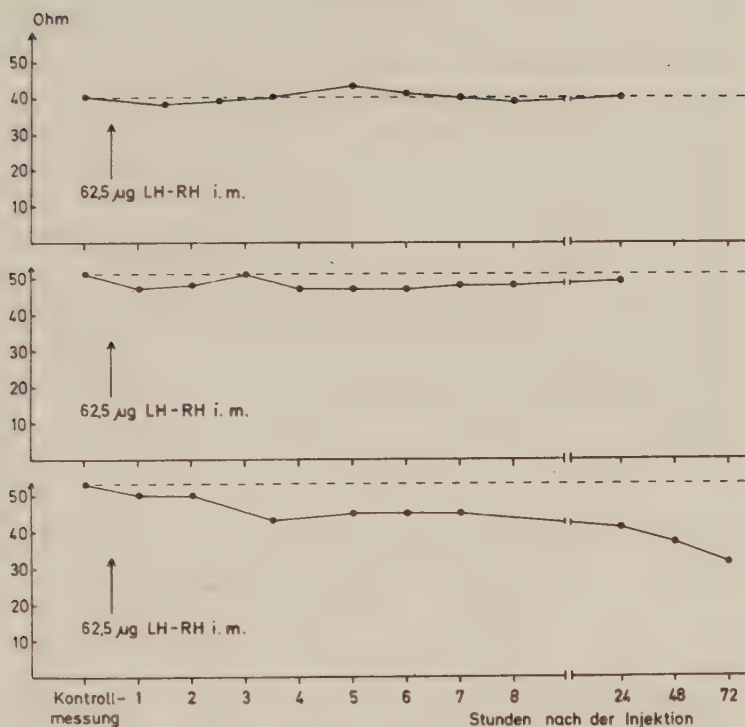


Abb. 23 Änderung des elektrischen Widerstandes des Vaginalsehleims in Abhängigkeit vom Zyklusstadium

Kuh Bruni: I.m. Injektion von 62,5 µg LH-RH am 5. Zyklustag (obere Abbildung), 11. Zyklustag (mittlere Abbildung) bzw. 18. Zyklustag (untere Abbildung)

Ähnliches kann bei den Kühen Hell (250 µg LH-RH i.m.) und Laro (500 µg LH-RH i.m.) beobachtet werden. Eine Gegenüberstellung der Ohmwerte des 6. und 11. Zyklustages zeigt in beiden Fällen eine Zunahme des Widerstandes am 6. Zyklustag. Am 11. Zyklustag fällt der elektrische Widerstand des Vaginalschleims bei beiden Tieren deutlich ab. 24 Stunden nach der Injektion ist das Niveau der Kontrollwerte wieder erreicht (siehe dazu Abb. 24).

Demgegenüber zeigen die Widerstandsänderungen bei der Kuh Bruni nach 500 µg LH-RH am 5. und 11. Zyklustag kaum Unterschiede. Die Ohmwerte vermindern sich am 11. Zyklustag etwas deutlicher.

4.5.1.2.3. Veränderung des elektrischen Widerstandes des Vaginalschleims nach mehreren Injektionen von LH-RH

Bei der Kuh Bruni (1500 µg am 13., 14. und 15. Zyklustag) sinkt der elektrische Widerstand nach der ersten und dritten Injektion bis auf 32 Ohm, nach der zweiten Injektion bis auf 36 Ohm ab. Er steigt 24 Stunden nach den Injektionen immer wieder bis 40 Ohm an. Dieser Wert bleibt in etwa bis zur nächsten Brunst erhalten. Damit wird der Kontrollwert von 50 Ohm (vor der ersten Injektion) nicht wieder erreicht.

Verbindet man die Ergebnisse der Widerstandsmessungen mit den Befunden nach rektalen Untersuchungen, so ergeben sich bei Einzeltieren folgende Kombinationen:

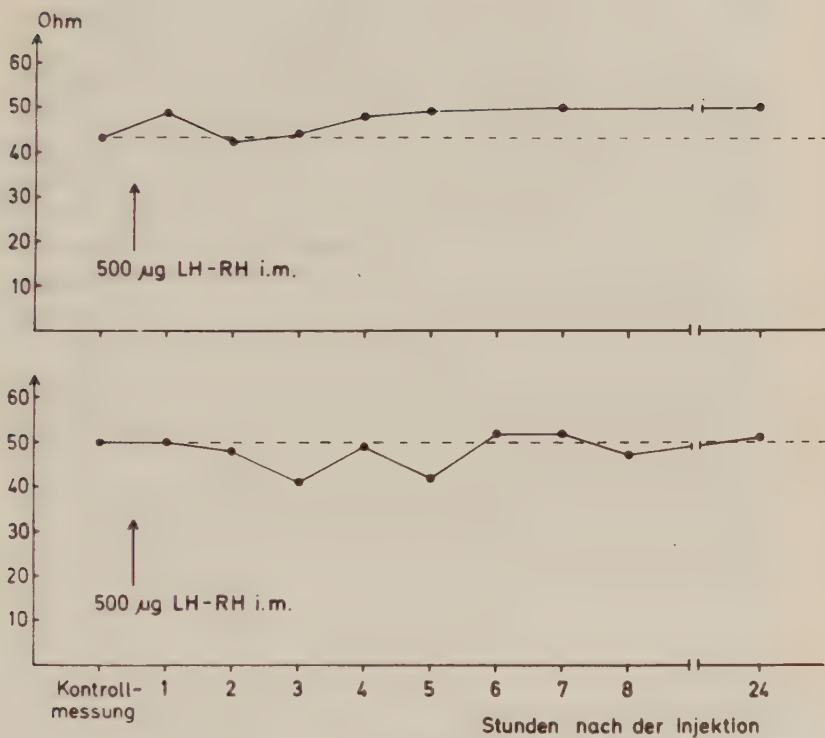


Abb. 24 Kuh Laro: Änderung des elektrischen Widerstandes des Vaginalschleims nach i.m. Injektion von 500 µg LH-RH am 6. (obere Abbildung) bzw. 11. Zyklustag (untere Abbildung)

Bei der Kuh Hell (250 μ g LH-RH i.m. am 11. Zyklustag) kommt es zu einer starken Verminderung der Ohmwerte. Sie besitzt schon vor Versuchsbeginn an ihrem rechten Ovar einen bohngroßen, harten Follikel.

Bei den Tieren mit einem Anstieg des elektrischen Widerstandes des Vaginalschleims (Kuh Hell und Kuh Laro - 250 μ g und 500 μ g LH-RH i.m. am 6. Zyklustag) sind die Ovarien durch je ein bläschenähnliches Gebilde gekennzeichnet, das in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem aufblühenden Corpus luteum liegt.

Bei der Kuh Bruni (500 μ g LH-RH i.m. am 5. und 11. Zyklustag) sind vor beiden Injektionen erbsengroße Follikel vorhanden. Am 5. Zyklustag hat der Follikel vor Versuchsbeginn weiche, am 11. Zyklustag harte Konsistenz. Diese Follikel stehen in keinem Zusammenhang mit einem Corpus luteum periodicum. An beiden Tagen sinkt der elektrische Widerstand des Vaginalschleims ab.

4.5.2. Versuche zur Ovulationsauslösung nach Entfernen des Gelbkörpers

Bei 4 Kalbinnen wurden in 6 Versuchen die Gelbkörper entfernt.

Bei den Kalbinnen Rocki-M und Roschli wurden am 12. und 8. Zyklustag die Gelbkörper entfernt. 18 bzw. 40 Stunden später erhielten sie 1500 μ g LH-RH i.m. injiziert. Den Kalbinnen Zenzi und Susi wurde im Abstand von 21 bzw. 24 Tagen zweimal der Gelbkörper entfernt.

Die Kalbin Zenzi bekam 22 Stunden nach der 1. und 24

Stunden nach der 2. Eukleation 1500 μ g LH-RH i.m. appliziert.

Der Kalbin Susi wurden 5 Stunden nach der 1. und 24 Stunden nach der 2. Eukleation 1500 μ g LH-RH i.m. verabreicht.

Die Ergebnisse, d.h. Follikelanbildung, Follikelsprung, Schleimabsonderung und Beeinflussung der Zykluslängen sind in Tabelle 8 wiedergegeben.

Die Ohmwerte der elektrischen Widerstandsmessungen des Vaginalschleims wurden in Tabelle 7, die Daten der verschiedenen LH-Kurven in der Tabelle 9 zusammengefaßt. In allen vorhandenen Blutproben wurde das Progesteron bestimmt. Es konnte damit überprüft werden, inwieweit eine Eukleation erfolgreich war.

Aus der Tabelle 8 geht hervor, daß in 3 von 6 Versuchen nach Entfernen des Gelbkörpers mit Hilfe einer LH-RH-Injektion Follikelwachstum stimuliert und anschließend Ovulationen ausgelöst werden konnten.

Die Follikel entstanden an den Ovarien, die von dem Eingriff der Eukleation nicht betroffen waren. Sie ovulierten zwischen 24 und 30 Stunden nach der Injektion. Die sich daran anschließenden Zyklen dauerten ebenso lange wie jene vor der Eukleation. Bei sämtlichen Tieren wurden Abgang von glasig-klarem, fadenziehendem Schleim und Uteruskontraktionen beobachtet. Der elektrische Widerstand des Vaginalschleims erreichte kurzzeitig Tiefstwerte zwischen 35 und 32 Ohm.

Bei der Kalbin Rocki-M wurden nach 1500 μ g LH-RH Follikelwachstum und Ovulation festgestellt. In der Abb. 25 sind die LH- und Progesteronkurven wiedergegeben. Die LH-Kurve zeigt ein biphasisches Verhalten. Die ver-

Tab. 8

Veränderungen am Ovar und Absonderung von Schleim nach Entfernung des Corpus luteum mit anschließender Applikation von LH-RH in Abhängigkeit vom Progesteronspiegel im Blut

Tier	Enukleation (Zyklustag)	Stunden zwischen Enukleation und Injektion	Dosis LH-RH (μ g)	Follikel- anbildung	Abgang von Schleim	Ovulation	1. Brunst nach der Enukleation	Progesteronwert vor der Injektion (ng/ml Plasma)
Roschli	8.	40	1500 i.m.	+	+	+	21. Tag	0,48
Roschli-M	12.	18	1500 i.m.	++	+	+	23. Tag	0,24
Susi 2	11.	24	1500 i.m.	++	+	+	21. Tag	0,7
Susi 1	14.	5	1500 i.m.	=	-	-	6. Tag	2,25
Zenzi 1	13.	22	1500 i.m.	+++	+	-	8. Tag	7,5
Zenzi 2	13.	24	1500 i.m.	++	+	-	C	1,0

+ = Größenzunahme eines vorhandenen Follikels

++ = Neubildung eines Follikels

+++ = Neubildung mehrerer Follikel

Susi 1, Zenzi 1 = Versuch nach der ersten Enukleation

Susi 2, Zenzi 2 = Versuch nach der zweiten Enukleation

C = Cystenbildung

Verschiedene LH-Kurvenparameter nach i.m. Applikation von LH-RH an Rinder nach Entfernung des Corpus luteum und an Rinder in der post-partum-Phase

Tier	Dosis LH-RH (μ g)	LH-Ausgangs- wert (ng/ml Plasma)	LH = Maximum 1		LH = Spitzewert		Fläche unter der LH-Kurve (in cm^2)	Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4ng LH/ml Plasma liegen (Min.)
			Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)	Zeit nach der Injektion (Min.)	LH-Wert (ng/ml Plasma)		
Roschli *	1500	1,8	40	11	95	44,5	61	330
Rockel**	1500	2,5	50	11,5	110	72,0	106	380
Susi 2*	1500	1,0	40	7,5	110	76,5	116,5	345
Susi 1*	1500	1,5	40	11,5	115	53,0	74,5	285
Zenzi 1*	1500	1,1	50	17,5	100	55,5	84,5	320
Zenzi 2*	1500	1,4	50	17,0	100	50,0	84,5	340
Hydo**	1500	1,3	50	7,0	100	34,0	43	290
Kabine**	1500	2,3	50	10,0	90	40,5	51	275
Karo**	1500	2,5	50	12,5	100	21,0	23,5	280
Kaki**	1500	1,5	55	7,0	115	31,5	41	270
Kalpri**	1500	1,1	45	5,5	95	21,5	28,5	240
Laro**	1500	8,0	E	-	10	15,5	12	240

* = LH-Kurve nach Enukleation und anschließender i.m. Applikation von LH-RH

** = LH-Kurve eines Rindes in der post-partum-Phase nach i.m. Applikation von LH-RH

Susi 1 und Zenzi 1 = LH-RH-Versuch nach der 1. Enukleation

Susi 2 und Zenzi 2 = LH-RH-Versuch nach der 2. Enukleation

E = Einzelstager, LH-Anstieg

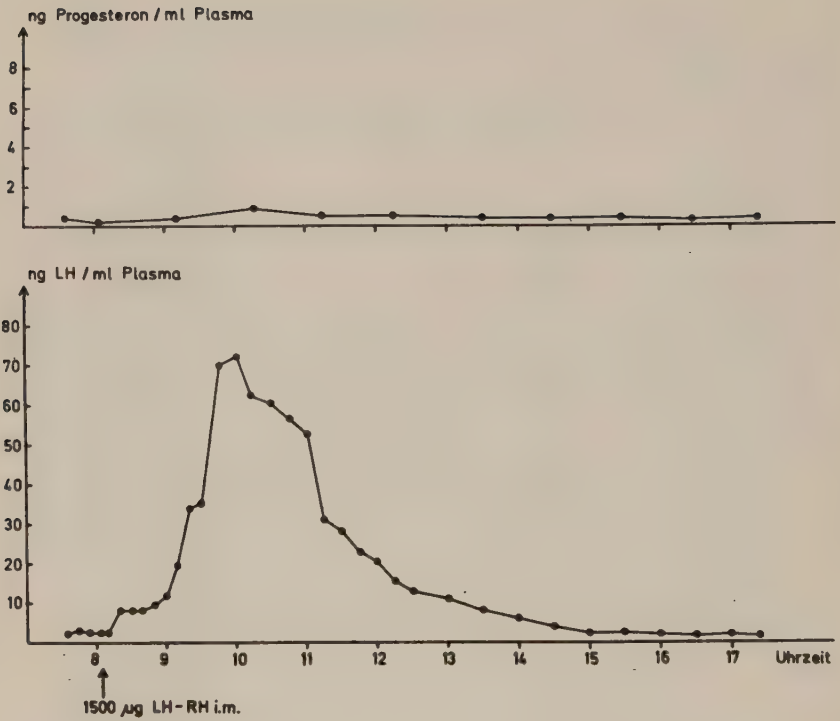


Abb. 25 Progesteron- und LH-Werte der Kalbin Rocki-M nach dem Entfernen des Gelbkörpers mit anschließender i.m. Applikation von 1500 µg LH-RH (Follikelwachstum mit Ovulation)

schiedenen Kurvendaten gehen aus der Tabelle 9 hervor. Die Progesteronwerte liegen vor und nach der Injektion an der unteren Nachweisgrenze.

In den Beispielen Roschli und Susi, bei beiden konnte Follikelwachstum angeregt und Ovulation ausgelöst werden (Beispiel Susi nach der 2. ENUKLEATION, siehe Tab. 8), zeigen die LH-Kurven ein ähnliches Bild. Die Progesteronwerte liegen auch bei diesen Tieren an der unteren Nachweisgrenze.

Diesen drei im Hinblick auf manipulierte Ovulation erfolgreichen ENUKLEATIONSVERSUCHEN ist damit gemeinsam:

- 1) Der Progesteronspiegel im Blut liegt während des Versuchstages unter 1,0 ng/ml Plasma.
- 2) Der abgesonderte Schleim ist glasig-klar und fadenziehend.

In 3 weiteren ENUKLEATIONSVERSUCHEN mit anschließender Verabreichung von 1500 µg LH-RH konnte keine Ovulation erreicht werden. Im einzelnen wurde folgendes festgestellt:

In einem von 2 Versuchen an der Kalbin Zenzi war die ENUKLEATION unvollständig. Dies geht aus den Progesteronwerten hervor. Die Reaktionen an Ovar und Uterus, die Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit des Vaginalschleims, und die Zunahme des LH im Plasma brachten ähnliche Ergebnisse wie Versuche während des Zyklus mit 1500 µg LH-RH, i.m. injiziert (siehe dazu Tab. 7 und 8).

Im zweiten Versuch an der Kalbin Zenzi ovulierte trotz

erfolgreicher Erukleation der etwa erbsengroße Follikel nicht. Der Follikel entstand am rechten, kirschgroßen Ovar. Am linken Ovar war der Gelbkörper entfernt worden. 24 Stunden nach der Injektion hatte der Follikel festweiche Konsistenz. Er vergrößerte sich während der nächsten 3 Wochen (6. Tag: kirschgroß, hart; 16. Tag: walnußgroß, gering weich) und erreichte nach 21 Tagen den Durchmesser eines kleinen Hühnereis, bei weicher Konsistenz. Das zystöse Gebilde bestand weitere 10 Tage. Es verkleinerte sich in der Folge und wurde fest, so daß 2 Monate nach der Injektion der rechte Eierstock nur noch kirschgroß und derb war.

In der Zeit, in der das zystöse Gebilde bestand, konnte bei der Kalbin ein brunstähnliches Verhalten beobachtet werden: Ständige Unruhe, Aufsprungversuche am Nachbar-tier. Das äußere Genitale war ödematisiert und gerötet. Seit dem Versuchstag hat das Tier nicht mehr gerindert. In der Abb. 26 sind die LH- und Progesteronwerte vom Tag der Erukleation an bis 3 Monate nach der Erukleation wiedergegeben.

Das Progesteron im Plasma fällt nach Entfernen des Gelbkörpers ab. Es bewegt sich während des Versuchstages zwischen 1,0 und 1,5 ng/ml. Einen Tag später sinkt es unter 1 ng/ml. In den folgenden 3 Monaten kann kein Progesteron nachgewiesen werden.

Die LH-Werte im Plasma liegen, abgesehen vom Versuchstag (Einzeldaten der biphasischen LH-Kurve nach der LH-RH-Injektion siehe Tab. 9) um 1,5 ng/ml.

Der elektrische Widerstand des Vaginalschleims fiel während des Versuchstages bis auf 33 Ohm ab (siehe Tab. 7). In der Zeit, in der die Zyste bestand, wurden Werte um 30 Ohm gemessen. Nach Rückbildung der Zyste lagen die Ohmwerte zwischen 33 und 40.



Abb. 26 Progesteron- und LH-Werte der Kalbin Zenzi nach Entfernen des Gelbkörpers mit anschließender i.m. Applikation von 1500 µg LH-RH (Entartung des neugebildeten Follikels zur Zyste)

Bei der Kalbin Susi wurde nach der ersten Eukleation (siehe Tabelle 8) und anschließender Verabreichung von 1500 µg LH-RH (Einzelaten der biphasischen LH-Kurve siehe Tab. 9) kein Follikel angebildet; eine Ovulation konnte nicht festgestellt werden. Der elektrische Widerstand des Vaginalschleims erreichte im Verlauf des Versuchstages einen Tiefstwert von 46 Ohm. Zum Zeitpunkt der Injektion lagen die Progesteronwerte bei 2,2 ng/ml Plasma.

5 Tage nach der Eukleation rinderte die Kalbin.

Bei den 3 zuletzt beschriebenen Versuchen an den Kalbinnen Zenzi und Susi konnte nach Verabreichung von LH-RH Abgang von zähpappigem, milchigem Schleim beobachtet werden.

Damit ist diesen, im Hinblick auf Follikelsprung erfolglosen Eukleationsversuchen gemeinsam:

- 1) Der Progesteronspiegel im Blut liegt während des Versuchstages über 1,0 ng/ml Plasma.
- 2) Der abgesonderte Schleim ist zähpappig und milchig.

In der Abb. 27 sind die Progesteron- und LH-Werte der Kalbin Susi von der ersten Eukleation an bis 21 Tage nach der zweiten Eukleation wiedergegeben. Nach beiden Eukleationen sinkt das Progesteron im Plasma deutlich ab. Dabei fallen die Progesteronwerte nach der ersten Eukleation in 80 Minuten von 9,5 bis 3,5 ng/ml Plasma. 5 Stunden später erreichen sie 2,2 ng/ml. Sie liegen erst 24 Stunden nach der LH-RH-Verabreichung unter 1 ng/ml.

Nach der zweiten Eukleation fallen sie innerhalb von 5 Minuten von 6,6 bis 3,8 ng/ml. Nach 2 1/2 Stunden sinken die Werte unter 1 ng/ml.

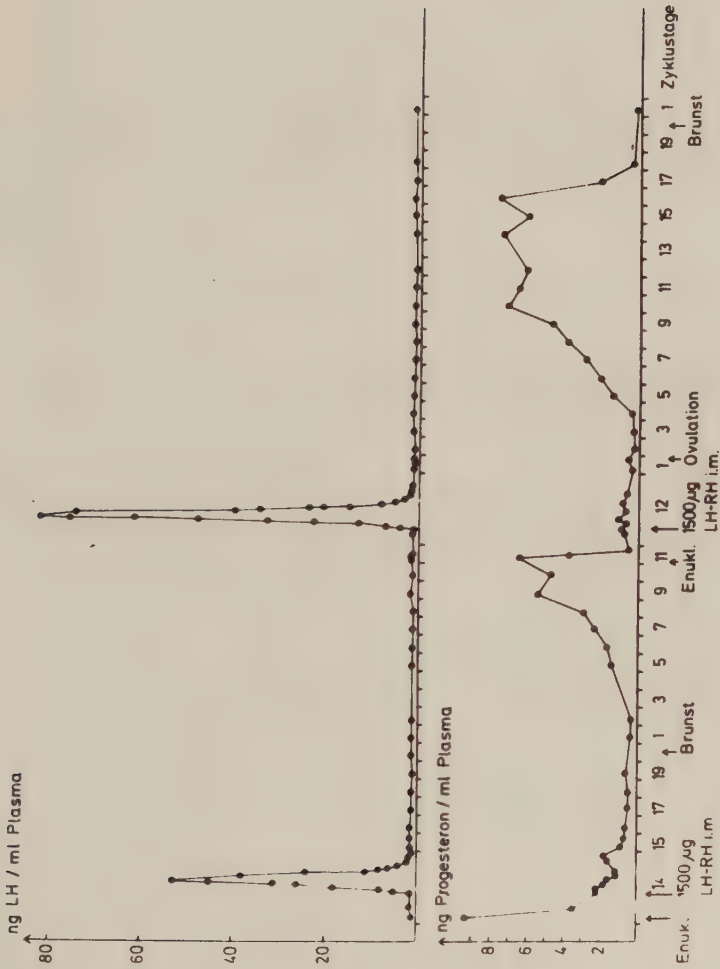


Abb. 27 Progesteron- und LH-Werte der Kalbin Susi vom ersten Enukleationsversuch an bis 21 Tage nach dem zweiten Enukleationsversuch
(Nach der 1. Enukleation: Keine Follikelbildung, keine Ovulation;
nach der 2. Enukleation: Follikelbildung mit anschließender Ovulation)

Am Versuchstag bewegt sich der Progesteronspiegel im Blut an der unteren Nachweisgrenze.

4 Tage nach der 2. LH-RH-Injektion steigen die Progesteronwerte wieder an. Sie fallen erst 18 Tage nach dem Versuch unter 1,0 ng/ml Plasma.

Aus dieser Abbildung geht gleichzeitig hervor, daß sich die LH-Freisetzung nach gleichen Dosierungen von LH-RH in Abhängigkeit vom Progesteronspiegel im Blut ändert.

Ein Vergleich der Werte der einzelnen Kurvenparameter macht dies deutlich:

LH-Höchstwert:

Progesterongehalt 2,2 ng/ml Plasma: 53 ng/ml Plasma

Progesterongehalt 0,7 ng/ml Plasma: 76,5 ng/ml Plasma

Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen:

Progesterongehalt 2,2 ng/ml Plasma: 285 Minuten

Progesterongehalt 0,7 ng/ml Plasma: 345 Minuten

Fläche unter der LH-Kurve:

Progesterongehalt 2,2 ng/ml Plasma: 74 cm²

Progesterongehalt 0,7 ng/ml Plasma: 116,5 cm²

4.5.3. Versuche zur Ovulationsauslösung an Kühen in der post-partum-Phase

6 Kühe p.p. wurden mit 1500 µg LH-RH i.m. behandelt. Sie befanden sich zwischen dem 12. und 18. Tag post partum und hatten seit dem Abkalben noch nicht gerindert. In der Tabelle 10 sind die Ergebnisse im Zusammenhang mit Follikelanbildung, Ovulation und Schleimabsonderung zusammengefaßt. Die Daten der einzelnen LH-Kurven gehen aus Tab. 9 hervor.

Neben LH wurde in den gewonnenen Blutproben auch Progesteron bestimmt.

Die Ergebnisse der Tabelle 10 zeigen: In 4 von 6 Versuchen an Kühen p.p. ovulierten nach i.m. Injektionen von 1500 µg LH-RH vorhandene oder neugebildete Follikel. Die Ovulationen erfolgten zwischen 24 und 31 Stunden nach der LH-RH-Applikation.

Während des Versuchstages kontrahierte sich in einigen Fällen der Uterus bei rektalen Untersuchungen (Kuh Laro, Kuh Kalipri, Kuh Nydo).

Die Rückbildungsvorgänge am Uterus dauerten bei den Kühen Kabine und Kakwi länger als 54 bzw. 51 Tage. Bei den Kühen Laro, Kalipri, Karo und Nydo dauerten sie 30, 25, 25 und 15 Tage.

In annähernd allen Versuchen wurde in den ersten 8 Stunden nach der Injektion fadenziehender Schleim abgesondert. Er war nur in einem Fall glasig-klar (Kuh Nydo), sonst eitrig-trüb oder schokoladenfarben.

Tab. 10

Veränderungen am Ovar und Absonderung von Schleim nach i.m. Applikation
von LH-RH an Rinder in der post-partum-Phase

Tier	Tag des Versuches post partum	Dosis LH-RH (μ g)	Follikel- anbildung	Abgang von Schleim	Ovulation	Zeitintervall zwischen Injektion und 1. Brunst post partum (Tage)
Kabine	12.	1500	++	+	+	67
Kakwi	14.	1500	+	+	+	37
Nydo	12.	1500	+	+	+	11
Karo	16.	1500	+	+	+	12
Kalipri	15.	1500	?	+	?	18
Laro	18.	1500	+	+	⬆	12

+ = Größenzunahme eines vorhandenen Follikels

++ = Neubildung eines Follikels

? = Follikel und Ovulation nicht festgestellt

⬆ = Follikel bei der Untersuchung geplatzt

5 der 6 Kurven sind charakterisiert durch einen biphasischen LH-Anstieg. Die LH-Kurve der Kuh Laro unterscheidet sich grundlegend. Schon 10 Minuten nach der Injektion wird ein LH-Spitzenwert von nur 15 ng/ml erreicht. Mit 8,0 ng/ml ist ihr LH-Kontrollwert außergewöhnlich hoch (siehe dazu Tab. 9).

Die Progesteronwerte des Versuchstages erreichen in 3 der 6 Beispiele (Kuh Nydo, Kuh Kabine, Kuh Karo) zwischen 1,0 und 3,0 ng/ml Plasma. Es fällt auf, daß sie teilweise schon vor der LH-RH-Injektion hoch liegen. In den ersten Tagen vor der Applikation bewegen sie sich um 0,5 ng/ml.

Soweit Progesteronbestimmungen der Blutproben von der Zeit nach dem Versuchstag vorliegen, geben sie folgende Hinweise:

- 1) Nach den künstlich hervorgerufenen Ovulationen setzt eine mehr oder weniger starke Progesteronsynthese ein.
- 2) Zwischen der Intensität der Progesteronzunahme im Plasma und rektal festgestellten Ovarveränderungen bestehen gewisse Zusammenhänge.
- 3) Die Dauer der Zeitintervalle zwischen Injektion und erster Brunst nach dem Abkalben wird mitbestimmt von der Funktion des Corpus luteum, gemessen an Hand des Progesteronspiegels im Blut.

So konnte man im Beispiel Nydo (siehe Abb. 28) nach der Ovulation über eine relativ kurze Zeitspanne nur wenig Progesteron im Blut feststellen. Ein rektal palpierbares Corpus luteum wurde nicht gebildet. Das Tier rinderte bereits 11 Tage nach dem Versuch.

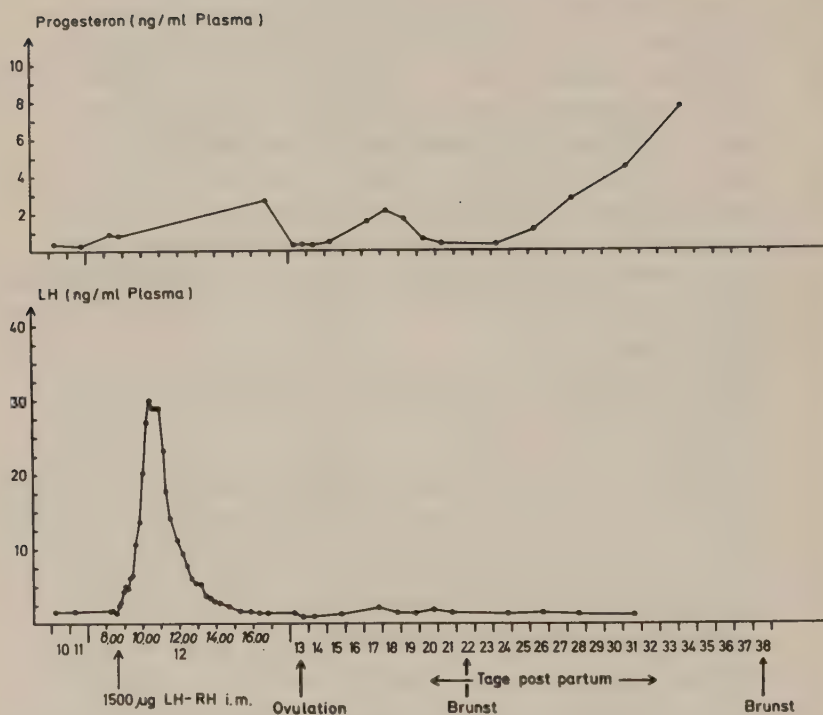


Abb. 28 Progesteron- und LH-Werte der Geburtskuh Nydo nach einer i.m. Injektion von 1500 µg LH-RH (Follikelwachstum und Ovulation)

Im Beispiel Kaqui (siehe Abb. 29) entstand 6 Tage nach der Injektion am linken Ovar an der Stelle des Follikels eine kirschgroße, harte Blase. 4 Tage später war sie hühnereigroß und weich. Das zystöse Gebilde blieb so bis zum 26. Tag nach der Injektion erhalten. Am 33. Tag hatte es sich verfestigt und war kleiner geworden. Das Progesteron im Plasma stieg so lange an, bis die Zyste voll entwickelt war (10 Tage nach der Injektion bis 3,5 ng/ml). In der Zeit, in der sich die ausgereifte Zyste nicht veränderte, bewegten sich die Progesteronwerte zwischen 1,0 und 2,0 ng/ml. Anschließend füllte sich die Zyste mit festem Gewebe auf und wurde kleiner: Das Progesteron im Plasma nahm noch einmal deutlich zu, um kurze Zeit später endgültig abzusinken. 3 Tage danach rinderte das Tier.

Im Beispiel Kabine (siehe Abb. 30) entstand 4 Tage nach der Ovulation ein Corpus luteum an der Stelle des Follikels. In dieser Zeit stieg das Progesteron im Plasma an. Zwischen dem 25. und 29. bzw. 30. und 43. Tag nach dem Versuch wurden im Bereich des Corpus luteum harte Blasen an- und zurückgebildet. Mehr oder weniger starke Schwankungen des Progesteronspiegels im Blut liefen dazu parallel.

Im Beispiel Kalipri (siehe Abb. 31) entwickelte sich nach der LH-RH-Injektion ein annähernd physiologischer Zyklus. Zwei Tage nach dem Versuch stiegen die Progesteronwerte an. Am 7. Tag wurde ein Corpus luteum in Blüte festgestellt. Der Progesteronwert dieses Tages lag bei 8 ng/ml. Zwei Tage vor der Brunst waren die Progesteronwerte abgefallen. Obwohl bei diesem Tier kein Follikel palpiert werden konnte, sprechen diese Daten dafür, daß auch hier mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Ovulation stattgefunden hatte.

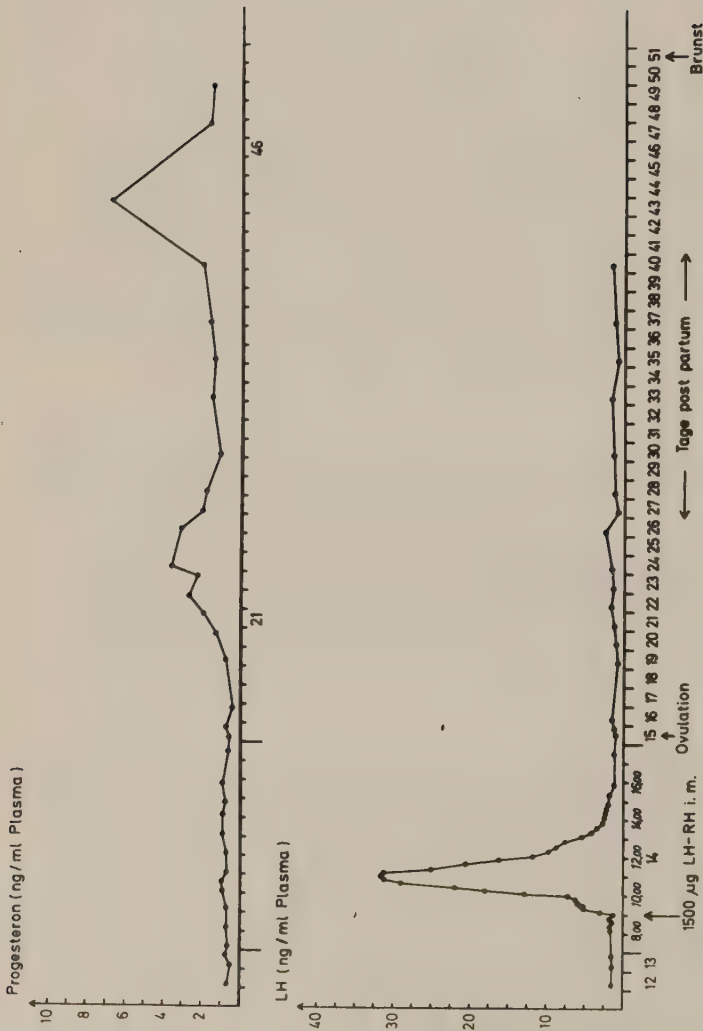


Abb. 29 Progesteron- und LH-Werte der Geburtskuh Kalki nach einer i. m. Injektion von 1500 µg LH-RH (Follikelwachstum und Ovulation; 6 Tage nach dem Versuch Zystenbildung im Bereich des gesprungenen Follikels)

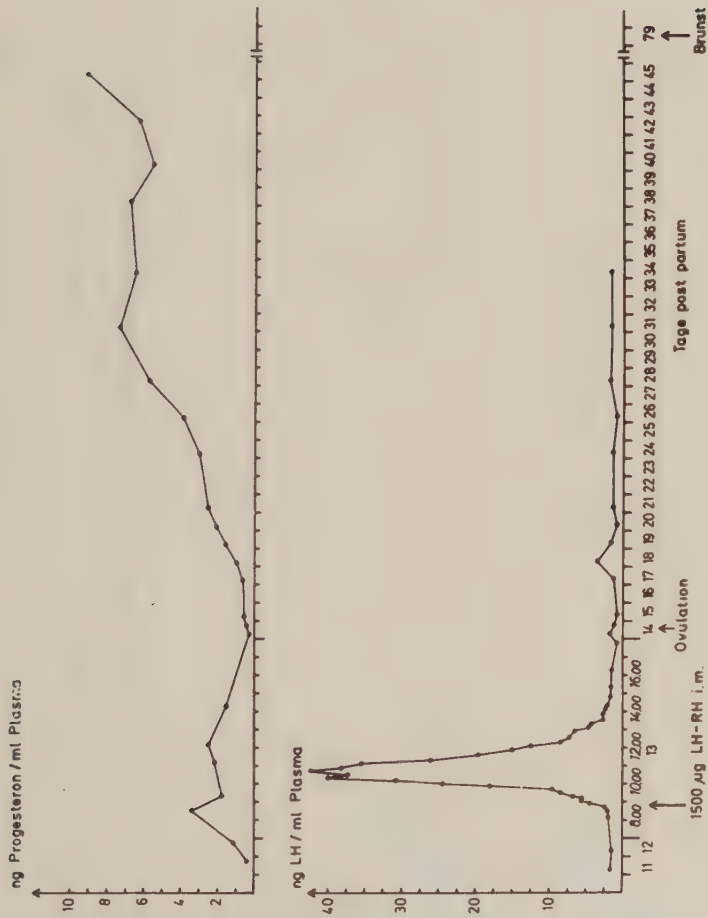


Abb. 30 Progesteron- und LH-Werte der Geburtskuh Kabine nach einer i.m. Injektion von 1500 µg LH-RH (Follikelanbildung und Ovulation; es entstand ein Corpus luteum persistens)

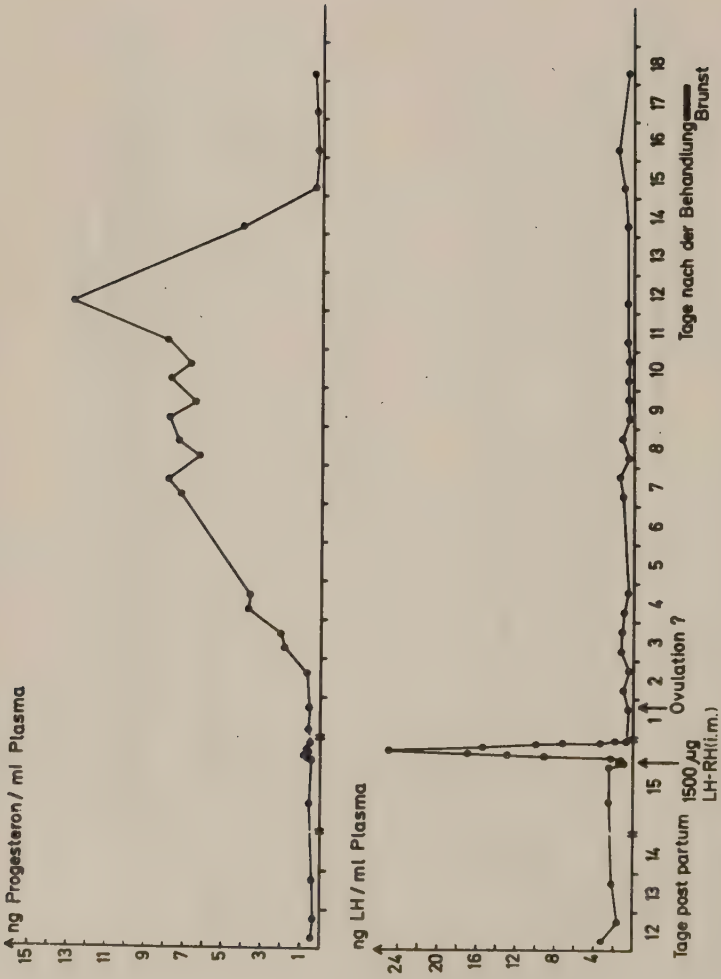


Abb. 31 Progesteron- und LH-Werte der Geburtskuh Kalipri nach einer i.m. Injektion von 1500 µg LH-RH (Follikelwachstum und Ovulation konnten nicht festgestellt werden)

5. Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß beim weiblichen und männlichen Rind das synthetische LH-Releasinghormon in der Lage ist, die LH-Abgabe aus dem HVL zu stimulieren. Es konnte bei weiblichen Tieren im Dosisbereich zwischen 62,5 und 2000 µg LH-RH, i.m. injiziert, nachgewiesen werden, daß zunehmende Dosierungen von LH-RH linear steigende Mengen von LH freisetzen.

Die durchschnittlichen LH-Spitzenwerte und mittleren Flächen unter den LH-Kurven nahmen bis zu einer Dosishöhe von 2000 µg LH-RH zu. Daraus kann gesehen werden, daß die Hypophyse einen beträchtlichen LH-Vorrat besitzt.

Die Zeitintervalle zwischen Injektion und LH-Spitzenwert einerseits, und deutlichem Absinken der LH-Werte andererseits, verlängerten sich nur geringfügig mit steigenden Dosierungen. Die nur wenige Minuten dauernde Halbwertszeit (SCHALLY et al. 1971 b) des LH-RH scheint dafür verantwortlich zu sein, daß auch hohe Mengen des Releasinghormons schnell wieder ausgeschieden werden. Damit wird auch nach hohen Dosierungen von LH-RH die LH-Freisetzung nicht deutlich verlängert.

Die Zeitintervalle, in denen die LH-Werte über 4 ng/ml liegen, verlängerten sich nur im unteren Dosisbereich linear mit steigenden Dosierungen. Die nur 35 Minuten dauernde Halbwertszeit des Luteinisierungshormons (SCHAMS & KARG 1969 b) und die Beobachtung, daß mit zunehmenden Dosierungen von LH-RH das Luteinisierungshormon nicht deutlich länger ausgeschüttet wird, könnten dieses Phänomen erklären.

Nach Versuchen mit i.v. Injektionen von LH-RH am weiblichen Rind wurden annähernd gleiche Verhältnisse vorgefunden wie nach Versuchen mit i.m. Applikation von LH-RH. Doch sind die Aussagen wegen des begrenzten Versuchsmaterials nicht eindeutig.

Ein Vergleich der LH-Kurven nach i.v. und i.m. Verabreichung ähnlicher Dosierungen von LH-RH zeigt, daß nach i.m. Injektionen die Werte der dosisabhängigen Kurvenparameter stets höher liegen.

Durch den verzögernden Effekt der Resorption nach i.m. Verabreichung von LH-RH wird insgesamt mehr LH freigesetzt. Dagegen liegen unmittelbar nach den i.m. Injektionen die LH-Werte niedriger. Damit wirkt sich die raschere Anflutung des Releasinghormons an die Hypophyse nach den i.v. Applikationen in der Anfangsphase der LH-Freisetzung günstiger aus.

In den Versuchen an den Bullen Kabine und Kaliro wurde nachgewiesen, daß auch beim männlichen Rind mit zunehmenden Dosierungen von LH-RH, i.m. oder i.v. injiziert, linear ansteigende Mengen LH freigesetzt werden. In der Versuchsserie am Bullen Kabine verlängerten sich die Zeitintervalle zwischen den Applikationen von LH-RH und LH-Spitzenwerten einerseits und deutlichem Absinken der LH-Werte andererseits, trotz steigender Dosierungen, nicht. Dies muß auf die außergewöhnlich sensible Reaktion des Tieres gegenüber LH-RH zurückgeführt werden.

Die beiden Versuche am Bullen Kabine (i.m. Verabreichung von 1000 und 1500 µg LH-RH, siehe Tab. 4), die ihren Ergebnissen nach in das Dosiswirkungsschema nicht eingefügt werden können, lassen den Schluß zu, daß beim männlichen Rind die Empfindlichkeit der Hypophyse gegenüber exogenem LH-RH nicht unverändert bleibt. Dabei

könnte in einem Fall die Gewichtszunahme des Tieres (2 Injektionen von 1500 μ g LH-RH, i.m. appliziert, im Abstand von 5 Monaten) eine Rolle spielen. Es wäre denkbar, daß gleiche Dosierungen von LH-RH bei leichteren Tieren aufgrund des geringeren Verteilungsvolumens mehr LH stimulieren.

Die an männlichen Rindern durchgeführten Versuche mit niedrigsten Dosierungen von LH-RH zeigen, daß nach i.v. Verabreichung insgesamt mehr LH freigesetzt wird (siehe Abb. 9). Es wäre denkbar, daß der nach i.m. Injektion auftretende Resorptionsverlust bei diesen unteren Grenzdosierungen von LH-RH wirksam wird.

Abgesehen vom Bullen Kabane wurden nach Versuchen mit vergleichbaren Dosierungen von LH-RH bei weiblichen und männlichen Rindern ähnlich hohe LH-Mengen freigesetzt. Damit kann in Übereinstimmung mit REEVES et al. (1970 a; Versuche am Schaf mit hochgereinigtem LH-RH vom Schwein) und KASTIN et al. (1969; Versuche am Menschen mit hochgereinigtem LH-RH vom Schwein) angenommen werden, daß nach Applikationen von LH-RH eine geschlechtsabhängige, unterschiedlich sensible Hypophysenreaktion nicht gegeben ist.

In zahlreichen Versuchen mit LH-RH an weiblichen und männlichen Tieren trat das Phänomen eines in der Regel zweiphasigen LH-Anstiegs auf. Ähnliches beobachteten REEVES et al. (1970 b) bei anöstrischen Schafen nach i.v. Verabreichung hochgereinigten Schweine-LH-Releasinghormons. Sie versuchten das Phänomen des biphasischen LH-Anstiegs folgendermaßen zu erklären:

"Während der ersten Phase des LH-Anstiegs werden die LH-Hypophysenzellen stimuliert. Bei hohen Dosierungen von LH-RH verbleibt ausreichend LH-RH im Blutkreislauf, um in der Phase der anwachsenden Hypophysenempfindlichkeit zusätzlich wirken zu können. Dabei soll LH-RH selbst in der Lage sein, die Hypophyse zu sensibilisieren." Auch für weibliche und männliche Rinder könnte diese Theorie gelten.

Die Tatsache einer zweiphasigen LH-Abgabe aus dem HVL nach niedrigen und nach hohen Dosierungen bei i.m. Applikation, einer dagegen monophasischen LH-Abgabe nach niedrigen Dosierungen bei i.v. Verabreichung von LH-RH, läßt folgenden Schluß zu:

Die Hypophyse reagiert prinzipiell auf exogenes LH-RH im Sinne einer zweistufigen LH-Freisetzung. Ein zweiphasiger LH-Anstieg ist jedoch nur gegeben, wenn LH-RH über die ersten 60 Minuten nach der Injektion hinaus wirken kann. Dies ist möglich nach niedrigen und hohen i.m. Dosierungen von LH-RH (durch den verzögernden Effekt der Resorption). Nach i.v. Verabreichung wird dies infolge des rascheren An- und Abflutens des LH-RH erst bei hohen Dosierungen erreicht.

Die Zeitintervalle zwischen Injektion und LH-Maximum 1 nach i.m. oder i.v. Applikation hoher oder niedriger LH-RH-Dosierungen sind annähernd gleich lang. Dies weist auf einen geradezu gesetzmäßigen Ablauf der Vorgänge hin.

Nach i.m. Applikation von LH-RH wurden in einigen Fällen dreiphasige LH-Zunahmen im Plasma festgestellt. Da in diesen Beispielen die LH-Werte in der Anfangsphase der LH-Freisetzung relativ hoch lagen, könnte eine erhöhte Hypophysensensibilität dafür verantwortlich sein.

In der Versuchsserie am Bullen Kabine wurde aus einem dreiphasigen LH-Anstieg nach niedrigen Dosierungen von LH-RH mit höheren Dosierungen eine konstant biphasische LH-Zunahme im Plasma. Obwohl dies bei i.m. Versuchen an weiblichen Rindern nicht auftrat, zeigen die Ergebnisse eine im Prinzip gleichgeartete LH-Abgabe nach der Applikation von LH-RH bei weiblichen und männlichen Rindern.

Aus den Versuchen an weiblichen und männlichen Rindern geht hervor, daß mit Dosierungen ab 250 µg LH-RH, i.m. oder i.v. injiziert, LH-Gipfel erreicht werden, die mit praeovulatorischen LH-Gipfeln vergleichbar sind.

Physiologische LH-Gipfel erstrecken sich beim Rind über einen Zeitraum von 5 bis 6 Stunden. Dabei können LH-Spitzenwerte von mindestens 7 bis maximal 100 ng LH/ml Plasma gemessen werden (SCHAMS & KARG 1969 a, HENRICKS et al. 1970, SNOOK et al. 1971, SPRAGUE et al. 1971, CUMMINS et al. 1972, SCHAMS & BUTZ 1972).

Die praeovulatorischen LH-Gipfel der Rinder unserer Versuchsherde erreichen Spitzenwerte von 10 bis 30 ng LH pro ml. Damit wurde mit hohen Dosierungen von LH-RH die Höhe der physiologischen LH-Gipfel in der Regel um etwa das fünf- bis achtfache überschritten.

Diese Beobachtungen stimmen überein mit den Ergebnissen, die GOLTER et al. (1972) nach Versuchen an geschlechtsreifen männlichen Rindern gewonnen haben.

Nach mehreren Injektionen steigender Dosierungen von LH-RH in zwei- bis fünfstündlichem Abstand nehmen die LH-Werte nach der 2. oder 3. Injektion nicht immer der Dosis entsprechend zu.

Folgende Zusammenhänge scheinen dabei zu bestehen:

Nach der 2. oder 3. Verabreichung von LH-RH wird nur dann LH aktiviert, wenn das Releasinghormon sensibilisierte LH-Hypophysenzellen antrifft. Diese Situation steht in engem Zusammenhang mit dem Spitzenwert der 1. LH-Kurve, d.h. die Phase der Sensibilisierung scheint so lange anzuhalten, wie LH-RH von der 1. Injektion her im Blut kreist und die LH-Werte im Blut noch hoch liegen. Eine 2. oder 3. Applikation von LH-RH setzt dann nur noch geringe LH-Mengen frei, wenn die Sensibilisierungsphase der LH-Hypophysenzellen abgeschlossen ist, d.h. aller Wahrscheinlichkeit nach das LH-RH der 1. Injektion schon abgebaut wurde, und die LH-Werte im Blut wieder Basiswerte erreicht haben. Da das LH-Releasinghormon nur kurzfristig im Blutkreislauf vorhanden ist, tritt die Phase der Desensibilisierung rasch ein. Während dieser Refraktärperiode appliziertes LH-RH kann nur noch eine geringe Wirkung entfalten.

Nach i.m. Injektionen von 250 µg LH-RH an 3 aufeinanderfolgenden Tagen wurde am Versuchstag 2 sichtbar weniger LH aus dem HVL abgegeben als am 1. Tag.

Die verminderte LH-Abgabe am Tag 2 der Versuchsserie beruht mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einer noch herabgesetzten Empfindlichkeit der Hypophyse (24 Stunden nach der 1. Applikation von LH-RH). Daß die LH-Reaktion am 3. Tag wieder zunimmt, könnte folgende Ursachen haben: Die von der 1. Injektion herrührende Desensibilisierung der LH-

Zellen ist aufgehoben (48 Stunden nach der 1. Verabreichung von LH-RH). Diese Zellen sind für exogenes LH-RH wieder voll empfänglich. Das LH-RH der 2. Injektion war nicht in der Lage ihre Refraktärperiode zu verlängern.

Die Möglichkeit einer Erschöpfung der LH-Reserven der Hypophyse nach der 1. Injektion von LH-RH muß erwogen werden. Allerdings sprechen die um ein Vielfaches höheren LH-Ausschüttungen in Versuchen mit hohen Dosierungen von LH-RH (1500 µg) dagegen.

Wurden 3 Injektionen von 1500 µg LH-RH im Abstand von je 24 Stunden i.m. verabreicht, so kam es am 2. und 3. Tag nur mehr zu einer schwachen LH-Zunahme im Plasma. Die auffällige LH-Depression muß ebenfalls auf eine gewisse, durch die 1. Injektion bedingte, Desensibilisierung der LH-Hypophysenzellen zurückgeführt werden. Auf der anderen Seite ist allerdings auch zu vermuten, daß die hohen Dosierungen von LH-RH die LH-Reserven der Hypophyse weitgehend entleert haben. Dafür spricht auch die Versuchsserie am Bullen Kaliro, in der ihm am 1., 3. und 7. Versuchstag jeweils 1500 µg i.m. injiziert wurden. Die LH-Freisetzung am 3. und 7. Versuchstag lag noch wesentlich niedriger als am Versuchstag 1.

Aus der Beobachtung, daß in dieser Versuchsserie an allen 3 Tagen in den ersten 10 bis 20 Minuten etwa gleich viel LH stimuliert wurde, kann man schließen, daß die Hypophyse nach längstens 48 Stunden wieder über exogenes LH-RH sensibilisiert werden kann. Doch scheinen 48 Stunden nach der 1. und 96 Stunden nach der 2. hohen Dosierung von LH-RH die LH-Reserven der Hypophyse noch nicht wieder aufgefüllt, obwohl nach SCHALLY et al.

(1971 b) LH-RH auch die Synthese von LH im HVL stimulieren soll.

Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse nach ähnlichen Versuchsanordnungen sind nicht einheitlich. REEVES et al. (1972 b) stellten in Versuchen an anöstrischen Schafen fest, daß nach zwei i.m. Injektionen von 200 µg LH-RH in vierstündlichem Abstand annähernd gleich hohe LH-Mengen freigesetzt werden. Dagegen beobachteten SANDOW et al. (1973) nach Verabreichung von 100 µg LH-RH an 3 aufeinanderfolgenden Tagen eine deutlich herabgesetzte Sensibilität der Hypophyse am 2. und 3. Versuchstag (Versuche an anöstrischen Schafen). SCHNEEDER & DAHLEN (1973) konnten in Versuchen am Menschen die nach einer ersten Injektion von LH-RH freigesetzte LH-Menge nach der Applikation einer 2. gleich hohen Dosis von LH-RH erst dann wieder stimulieren, wenn zwischen der 1. und 2. LH-RH-Verabreichung mindestens 60 Minuten vergangen waren. Versuche von SYMONS et al. (1972) stützen sich auf die Beobachtung von GODING et al. (1969), daß beim anöstrischen Schaf 9 bis 24 Stunden nach einer Östrogeninjektion das LH im Plasma ansteigt. Sie verabreichten anöstrischen Schafen 2 Östrogeninjektionen im Abstand von 24 Stunden. Die LH-Ausschüttung nach der 2. Injektion lag deutlich tiefer. Dagegen wurde nach Applikation von LH-RH 24 Stunden nach der 2. Östrogeninjektion die erwartete Menge LH stimuliert.

Um festzustellen, ob sich die LH-Abgabe aus dem HVL im Verlaufe des Zyklus ändert, wurden mehrere Versuchsserien mit gleichen Dosierungen von LH-RH am 6., 11. und 18. Zyklustag beim selben Tier durchgeführt. Es zeigte sich, daß die gesamte LH-Freisetzung an den verschiedenen Zyklustagen nicht gleich war. Da bei einem Tier am 6., bei einem anderen Tier jedoch am 12. Zyklustag mehr LH aktiviert wurde, sind in diesem Zusammenhang keine klare Aussagen möglich.

Insbesondere nach hohen Dosierungen von LH-RH ergaben sich am 6. und 12. Zyklustag geringfügige, aber konstante Unterschiede in der Anfangsphase der LH-Ausschüttung. Es ist zu vermuten, daß diese Veränderungen in der LH-Freisetzung im Zusammenhang stehen mit wechselnden Konzentrationen der Ovarsteroiden im Plasma und damit an der Hypophyse. Zu der Erkenntnis, daß die Ovarsteroiden direkt an der Hypophyse angreifen und somit die LH-Freisetzung nicht nur über den Hypothalamus steuern, führten Versuche von SCHALLY et al. (1971 b). Sie erzielten bei diöstrischen Ratten nach Injektionen geringer Östrogenmengen mit anschließender Applikation von LH-RH eine höhere LH-Freisetzung, als nach alleiniger Verabreichung von LH-RH. Ähnliches beobachteten REEVES et al. (1971) bei anöstrischen Schafen. DEBELJUK et al. (1972) gelang es in Versuchen an Ratten und Schafen nach gleichzeitiger Verabreichung von Östrogenen und Progesteron vor der LH-RH-Injektion die Menge des freigesetzten LH zu vermindern. Progesteron vor hohen Dosierungen von LH-RH veränderten die LH-Abgabe aus dem HVL nicht, verminderten sie aber vor niedrigen Dosierungen von LH-RH.

Da in unseren Versuchen am 6., 12. und 18. Zyklustag die

Unterschiede in der Anfangsphase des LH-Anstiegs und in der gesamten LH-Freisetzung nicht sehr deutlich ausgeprägt waren, kann man daraus schließen, daß die wechselnden Konzentrationen der Sexsteroiden im Plasma während dieser Zyklusphasen keinen weitreichenden Einfluß auf die Hypophyse ausüben.

Demgegenüber wiesen REEVES et al. (1970 c) an Schafen nach, daß die LH-Zunahme im Plasma nach LH-RH-Injektionen (Versuch mit hochgereinigtem Schweine-LH-RH) 4 bis 8 Stunden nach Brunstbeginn höher liegt, als zu jeder anderen Zeit während des Zyklus. Die Autoren begründen dies mit einer östrogenbedingten, gesteigerten Hypophysensensibilität gegenüber exogenem LH-RH. Es ist durchaus denkbar, daß auch bei Rindern in diesem Zyklusstadium nach Applikation von LH-RH sichtbar mehr LH freigesetzt wird.

In diesem Zusammenhang sind die Versuchsergebnisse interessant, die nach der Infusion einer hohen Östrogendosis mit anschließender i.m. Applikation von 1500 µg LH-RH bei der Kuh Bruni gewonnen wurden. Verglichen mit der LH-Freisetzung nach einfacher i.m. Verabreichung von 1500 µg LH-RH war die LH-Ausschüttung deutlich herabgesetzt. Dies könnte bedeuten, daß hohe Östrogendosierungen die LH-Abgabe aus dem HVL verzögern und abschwächen. Dieser Vorgang wäre vergleichbar etwa mit jenem negativen Rückkopplungsmechanismus, über den hohe Östrogendosierungen die Stimulierung von LH-RH am Hypothalamus hemmen (nach BERCHTOLD 1966).

Bei der Kalbin Susi wurde nach einer hohen Dosis von LH-RH bei einem gleichzeitigen Progesteronspiegel im Blut von 0,7 ng/ml wesentlich mehr LH freigesetzt, als nach der selben LH-RH-Dosis bei einem Progesteronspiegel von 2,2 ng/ml.

Auch daraus kann man die schon bekannte Erkenntnis ableiten, daß höhere Progesteronkonzentrationen hemmend auf die LH-Freisetzung wirken.

In den Versuchen an Rindern während des Zyklus, nach Entfernen des Corpus luteum und in der post-partum-Phase wurden nach hohen Dosierungen von LH-RH an den Ovarien Follikel angebildet. Damit wird indirekt bewiesen, daß das synthetische LH-RH neben der LH stimulierenden Wirkung auch die Eigenschaft besitzt, FSH aus dem HVL freizusetzen.

Nach i.m. Applikation von 1500 µg LH-RH an Kühe in der post-partum-Phase und bei einigen Kalbinnen nach dem Entfernen des Corpus luteum mit anschließender Verabreichung von 1500 µg LH-RH konnten Ovulationen ausgelöst werden. In diesen Versuchen waren die durch exogenes LH-RH stimulierten LH-Mengen höher, als jene vor physiologischen Ovulationen. Am Versuchstag lag der Progesteronspiegel im Blut in der Regel unter 1,0 ng pro ml.

Dagegen konnte mit der gleichen Dosierung an Kühen während des Zyklus keine Ovulation (abgesehen von der Kuh Bruni am 18. Zyklustag, siehe Abb.21) induziert werden, obwohl auch in dieser Versuchsgruppe nach der Verabreichung von LH-RH mehr LH freigesetzt wurde als vor physiologischen Ovulationen. Allerdings lag der Progesteronspiegel im Blut stets über 1,5 ng/ml.

Insbesondere aus den Versuchen an Kalbinnen nach dem Entfernen des Gelbkörpers mit anschließender Applikation einer hohen Dosis von LH-RH geht hervor, daß die Höhe des Progesteronspiegels im Blut darüber entscheidet, ob mit Hilfe von LH-RH eine Ovulation erreicht werden kann oder nicht.

Daraus kann man schließen, daß das Progesteron nicht nur zentral im Bereich des Hypothalamus-Hypophysensystems, sondern auch peripher am Ovar wirkt.

Ähnliches beobachteten REDMOND (1968) und STEVENS et al. (1970). Sie konnten mit Hilfe von exogen zugeführtem LH an mit Progesteron vorbehandelten Ratten keine Ovulationen auslösen.

Mit hoher Wahrscheinlichkeit ovulierte bei der Kuh Bruni ein neugebildeter Follikel (am 18. Zyklustag nach i.m. Injektion von 500 μ g LH-RH); obwohl sich zum Zeitpunkt der Verabreichung von LH-RH und während des Versuchstages die Progesteronwerte über 5 ng/ml bewegten. Allerdings lagen die Progesteronwerte zur Zeit der vermuteten Ovulation unter 1,0 ng/ml, d.h. das LH-Releasinghormon wurde während der luteolytischen Phase des Zyklus verabreicht. Auf diese Weise scheint eine Ovulation möglich geworden zu sein.

Da keine Ovulation festgestellt werden konnte, der Zyklus nach der vermuteten Ovulation jedoch verkürzt war, und die Progesteronwerte vergleichsweise tief lagen, muß die Möglichkeit diskutiert werden, daß dieser Follikel ohne zu rupturieren, frühzeitig luteinisierte. Daß Follikel ohne Ovulation luteinisiert werden können, zeigten Versuche von NALBANDOV (1970) am Kaninchen.

Im Gegensatz zum Beispiel Bruni kamen in zwei LH-RH-Ver-suchen nach Entfernen des Gelbkörpers auch dann keine Ovulationen zustande, wenn zum Zeitpunkt eines möglichen Follikelsprungs die Progesteronwerte unter 1,0 ng/ml lagen (Kalbin Susi nach der 1. E nukleation und Kalbin Zenzi nach der 2. E nukleation, siehe Tab. 8).

Daraus kann ersehen werden, daß in der sensiblen Phase nach einer E nukleation oder der Luteolyse, mit ent-scheidenden Veränderungen am Ovar innerhalb relativ kurzer Zeit, der einfache Parameter Progesteron im Plasma nicht immer ausreicht.

Bei einem Tier aus der E nukleationsgruppe entartete der neugebildete Follikel zur Zyste. Dieses Beispiel macht deutlich, wie überaus empfindlich das Ovar in dem Zeit-intervall zwischen Luteolyse und Ovulation reagieren kann.

In einigen Versuchen an Kühen in der post-partum-Phase lagen die Progesteronwerte schon vor der Verabreichung von LH-RH und während des Versuchstages über 1,0 ng/ml. Trotzdem konnten Ovulationen ausgelöst werden. Die Be-obachtung von WAGNER et al. (1969), daß bei Rindern 7 bis 30 Tage nach dem Abkalben vergleichsweise hohe Progesteronkonzentrationen in den Nebennieren vorhanden sind, bietet eine Erklärung für dieses Phänomen. Es ist denkbar, daß infolge der Manipulationen am Tier das Hypophysen-Nebennierensystem gereizt wurde, und auf diese Weise Progesteron aus der Nebennierenrinde ins Blut gelangte. Unterstützt wird diese Vermutung durch Versuchsergebnisse von WAGNER et al. aus dem Jahre 1972. Es gelang ihnen bei Rindern nach Applikation von ACTH den Progesteronspiegel im Blut kurzfristig zu erhöhen.

An Hand dieser Ergebnisse werden auch die niedrigen

Progesteronkonzentrationen von etwa 0,5 ng/ml Plasma bei den übrigen Versuchen an Rindern in der post-partum-Phase und bei einigen Versuchen nach Entfernen des Corpus luteum verständlich. Sie sind nach McCracken (1963) und Hoffmann (1972) auf eine geringe sekretorische Aktivität der Nebennierenrinde zurückzuführen. Wie aus unseren Versuchen hervorgeht, behindert das aus der Nebennierenrinde stammende Progesteron nicht die Fähigkeit des LH Ovulationen auszulösen.

Ist es nach Entfernen des Gelbkörpers und anschließender i.m. Verabreichung von 1500 µg LH-RH über Follikelwachstum zu einer Ovulation gekommen, so werden Gelbkörper angebildet, die sich von physiologischen Corpora lutea periodica in Aktivität und Funktionslänge nicht unterscheiden. Dagegen waren die Ovarbefunde bei post-partum-Tieren nach künstlich hervorgerufenen Ovulationen unterschiedlich.

Bei der Kuh Nydo kam es trotz Ovulation nur zu einer schwachen Progesteronsynthese. Da kein Gelbkörper palpiert werden konnte, ist es wahrscheinlich, daß zu diesem frühen Zeitpunkt nach dem Abkalben eine ausreichende Transformation der Granulosazellen in Luteinzellen nicht möglich war.

Bei der Kuh Kaqui bildete sich 6 Tage nach der durch LH-RH induzierten Ovulation eine Gelbkörperzyste. Nach kurzem Progesteronanstieg wurde die Progesteronsynthese wieder eingeschränkt. Abgang von dünnflüssigem Schleim deutete darauf hin, daß auch Östrogene produziert wurden. Da dieser Zystentyp bei Rindern in der post-partum-Phase relativ häufig beschrieben wird (Morrow et al. 1969), kann die Corpus luteum-Zyste nicht auf eine spezifische Wirkung

des LH-RH zurückgeführt werden.

Daß schon am 12. Tag nach dem Abkalben eine Gelbkörperbildung möglich ist, die sich von jener während eines physiologischen Zyklus kaum unterscheidet, beweist das Beispiel der Kuh Kalipri.

Die Versuche an post-partum-Kühen deuten gewisse Zusammenhänge zwischen Länge der Corpus-luteum-Phase und Dauer der Uterusinvolution an. In den Fällen einer verzögerten Uterusrückbildung (MORROW et al. 1966 und RÜSSE 1968) war die Progesteronsynthese verlängert. Berücksichtigt man die Funktion des Uterus als Träger des luteolytischen Faktors (ANDERSON et al. 1969) scheint es naheliegend, die verzögerte Uterusrückbildung für die anhaltende Gelbkörpertätigkeit verantwortlich zu machen. Versuche von GRUNERT & ESSER (1971), die über intrauterine Infusionen von Lugol'scher Lösung Brunstzyklen verlängerten, deuten diese Möglichkeit an. Allgemein kann festgestellt werden, daß die morphologischen Veränderungen am Corpus luteum (Größe und Bläschenbildung) mit den entsprechenden Progesteronkonzentrationen im Blut gut übereinstimmen. Nach HOFFMANN (1972) muß allerdings die rektal palpierende Größe des Corpus luteum nicht unbedingt ein Maßstab für die Progesteronproduktion sein.

Bei der Kuh Laro weisen Ovarbefunde und LH-Kurve darauf hin, daß unmittelbar vor der Applikation von LH-RH eine physiologische LH-Freisetzung eingesetzt hatte.

Stellt man sämtliche LH-Kurven nach 1500 µg LH-RH, i.m. injiziert, einander gegenüber, so zeigt sich eine deutlich schwächere LH-Stimulierung bei den Kühen in der post-partum-Phase. Dies stimmt mit der Feststellung von

SAIDUDDIN (1968) überein, daß bei Rindern in der postpartum-Phase bis 30 Tage nach dem Abkalben der LH-Gehalt der Hypophyse herabgesetzt ist.

Über die Auslösung von Ovulationen nach Verabreichung von LH-RH wurde in der Literatur bisher von zwei Tierarten berichtet. REEVES et al. (1972 b) beobachteten Ovulationen bei anöstrischen Schafen, ARIMURA et al. (1971) bei Goldhamstern. In diesen Versuchen wurden jedoch die Progesteronkonzentrationen im Blut nicht gemessen.

In einem Großteil der LH-RH-Versuche sank der elektrische Widerstand des Vaginalschleims ab. Mit steigenden Dosierungen von LH-RH wurden tiefere Ohmwerte erreicht. Sie verminderten sich bei gleichen Dosierungen von LH-RH vom 6. über den 12. zum 18. Zyklustag deutlicher. Nach HOFFMANN & SCHAMS (unveröffentlichte Daten) läuft die Abnahme des elektrischen Widerstands parallel zu einem Anstieg des Östrogenspiegels im Blut. Daraus folgt, daß mit höheren Dosierungen von LH-RH (= stärkerer Abfall des elektrischen Widerstandes) wahrscheinlich mehr Östrogene produziert werden. Diese Überlegung stimmt überein mit der Tatsache, daß insbesondere nach hohen Dosierungen von LH-RH beinahe ohne Ausnahme Follikel angebildet wurden. Auch die Beobachtung, daß vor dem Versuch vorhandene Follikel nach der Applikation von LH-RH größer und weicher wurden, sowie die Feststellung relativ niedriger Ohmwerte nach mittleren Dosierungen von LH-RH, dann, wenn schon

vor der Injektion Follikel bestanden, deutet auf den engen Zusammenhang zwischen LH-RH, Follikelwachstum und Östrogenproduktion hin.

SCHAMS & BUTZ (1972) konnten während eines physiologischen Zyklus bei 11 Tieren folgende Ohmwerte messen: Einige Stunden vor Auftreten der äußeren Brunstsymptome: 41 Ohm; Hochbrunst: 30 Ohm; 15 Stunden vor der Ovulation: 43 Ohm; Ovulation: 46 Ohm; während des Diöstrus: 48 Ohm.

Diese Werte zeigen, daß in Versuchen während des Zyklus, insbesondere nach hohen Dosierungen von LH-RH, aber auch nach mittleren Dosierungen, bei vorher vorhandenem Follikel, kurzzeitig brunstähnliche Tiefstwerte gemessen werden konnten. Ähnlich liegen die Ergebnisse bei Versuchen nach Entfernen des Corpus luteum mit künstlich hervorgerufener Ovulation.

Daraus kann ersehen werden, daß eine möglicherweise zu geringe oder nur kurzfristig anhaltende Östrogenproduktion nicht verantwortlich dafür ist, daß während des Zyklus in der Regel keine Ovulationen ausgelöst werden konnten.

In 2 Versuchen am 6. Zyklustag (Kuh Laro und Kuh Hell, 500 bzw. 250 µg LH-RH i.m. injiziert) nahm der elektrische Widerstand des Vaginalschleims nach den Injektionen zu. Da an den Ovarien zur gleichen Zeit Bläschenbildung im Bereich der Corpora lutea festgestellt werden konnte, deutet sich hier die Möglichkeit einer luteotropen Wirkung des vom LH-RH freigesetzten LH an. Die Beobachtung, daß nach der Verabreichung des Releasinghormons Ohmwerte gemessen wurden wie am 12. Zyklustag, unterstützt diese Vermutung.

Die Feststellung, daß bei gleichen Dosishöhen von LH-RH der elektrische Widerstand des Vaginalschleims am 6. Zyklustag eher steigende Tendenz zeigt, am 18. Zyklustag jedoch deutlich abfällt, könnte ebenfalls im Zusammenhang mit der luteotropen Wirkung des LH gesehen werden.

In den meisten Versuchen lagen die Ohmkontrollwerte am 6. Zyklustag niedriger als am 12. Zyklustag. Dies steht in einem gewissen Widerspruch zu den Messungen von SCHAMS & BUTZ (1972), bei denen sich die Ohmwerte des 6. und 12. Zyklustages kaum unterscheiden. Da GLENCROSS & POPE (1972) bei Rindern des 6. Zyklustages relativ hohe Östrogenkonzentrationen im Blut feststellen konnten (die Östrogenwerte sind mit jenen während der Brunst vergleichbar), wäre diese Beobachtung in der Lage, die niedrigeren Ohmkontrollwerte des 6. Zyklustages zu erklären.

In zahlreichen Versuchen, insbesondere nach hohen Dosierungen von LH-RH, ging zähpappiger, milchiger, in Versuchen mit künstlich ausgelösten Ovulationen glasig-klarere, fadenziehender Schleim ab. Damit hatte dieser in Versuchen mit künstlich ausgelöster Ovulation den Charakter von Brunstschleim. In den anderen Fällen war er vergleichbar mit Schleim, wie er zu Beginn oder am Ende der Brunst abgesondert wird. In einigen post-partum-Versuchen veränderte ihn Lochialflüssigkeit.

Die Ergebnisse der Versuche an Rindern in der post-partum-Phase deuten die Möglichkeit an, daß man mit Hilfe des synthetischen Releasinghormons das Zyklus-

geschehen nach dem Abkalben früher in Gang setzen und so die Zwischenkalbezeit verkürzen könnte.

Einer einjährigen Kalbin, die bis zum Versuchstag noch nicht gerindert hatte, wurden 1500 μ g LH-RH i.m. verabreicht. Obwohl das Tier mit einer hohen LH-Ausschüttung reagierte, konnte keine Ovulation induziert werden. Damit sind die pathologischen Veränderungen vermutlich an den Ovarien selbst zu suchen. Dieses Beispiel zeigt, daß das synthetische Releasinghormon auch als diagnostisches Hilfsmittel eingesetzt werden kann.

6. Zusammenfassung

1. Ein synthetisches LH-Releasinghormon wurde geschlechtsreifen weiblichen und männlichen Rindern verabreicht. Die durch das Releasinghormon hervorgerufene Freisetzung des Luteinisierungshormons im Blut wurde mit Hilfe einer radioimmunologischen Methode nachgewiesen. Der Einfluß des synthetischen LH-RH auf die Ovarien und den Uterus wurde über rektale Palpation festgestellt. Änderungen des elektrischen Widerstandes des Vaginalsekrets nach der Applikation von LH-RH wurden mit einem Ohmmeter gemessen.
2. Sowohl bei weiblichen als auch bei männlichen Rindern setzten zunehmende Dosierungen von LH-RH, i.v. oder i.m. appliziert, steigende Mengen LH frei. Die LH-Abgabe aus dem Hypophysenvorderlappen erfolgte biphasisch.
3. Nach 2 oder 3 Injektionen von LH-RH im Abstand von 2 bis 4 Stunden oder im Abstand von 24 und mehr Stunden kam es in der Regel zu einer deutlich geringeren LH-Freisetzung nach der 2. oder 3. Injektion.
4. Wurden gleiche Dosierungen von LH-RH am 5., 11. und 18. Zyklustag i.m. verabreicht, so zeigten sich nur geringe Unterschiede in der LH-Freisetzung.
5. In Versuchen mit hohen Dosierungen von LH-RH an Rindern während des Zyklus, nach Entfernen des Gelbkörpers und in der post-partum-Phase wurde Follikelwachstum festgestellt. Damit konnte die FSH stimulierende Eigenschaft des synthetischen LH-RH indirekt nachgewiesen werden.

6. In den Versuchen während des Zyklus gelang es in der Regel nicht mit Hilfe von LH-RH Ovulationen auszulösen. Der Progesteronspiegel im Blut lag stets über 1,5 ng/ml.
7. Ovulationen wurden in den Versuchen mit LH-RH an Kalbinnen nach dem Entfernen des Gelbkörpers, und an Kühen in der post-partum-Phase nur dann festgestellt, wenn der Progesteronspiegel im Blut in der Regel unter 1,0 ng/ml lag.
8. Die Zykluslängen nach künstlich ausgelösten Ovulationen bei Tieren nach dem Entfernen des Gelbkörpers unterschieden sich nicht von physiologischen Zykluslängen. Bei Rindern in der post-partum-Phase dauerten die Zyklen verschieden lang. In dieser Versuchsgruppe konnte ein Zusammenhang zwischen der Intensität der Progesteronsynthese und der Länge der Zyklen festgestellt werden. Die Zyklen waren bei Tieren mit verzögerten Rückbildungsvorgängen am Uterus verlängert. Die im Blut gemessenen Progesteronwerte und die Befunde am Ovar stimmten gut miteinander überein.
9. Nach der Verabreichung des synthetischen Releasinghormons fiel der elektrische Widerstand des Vaginalschleims in der Regel ab. Höhere Dosierungen von LH-RH führten zu einer deutlicheren Verminderung des elektrischen Widerstandes als niedrigere Dosierungen von LH-RH. Am 18. Zyklustag sank der elektrische Widerstand bei gleichen Dosierungen von LH-RH stärker ab als am 5. und 11. Zyklustag. In einigen Versuchen mit LH-RH am 6. Zyklustag stieg der elektrische Widerstand des Vaginalschleims an.

S u m m a r y

1. A synthetic LH-releasing hormone was administered to female and male adult cattle. The release in blood of the luteinizing hormone induced by the releasing hormone was determined by means of a radioimmunological method. The influence of the synthetic LH-RH on the ovaries and on the uterus was determined by rectal palpation. Changes in the electrical resistance of the vaginal mucus after administration of LH-RH were measured with an ohm-meter.
2. In females as well as in males increasing doses of LH-RH administered i.v. or i.m. released increasing amounts of LH. The LH-release from the adeno-hypophysis was biphasic.
3. After 2 or 3 injections of LH-RH every 2 to 4 hours, or every 24 hours or more, there was usually a clearly lower LH-release after the 2nd or 3rd injection.
4. When the same doses of LH-RH were administered i.m. on the 5th, 11th and 18th day of oestrus, only few differences in the LH-release were found.
5. In experiments with high doses of LH-RH in cows during oestrus cycle, after removing the corpus luteum, and in the post-partum-period, follicle growth was detected. The stimulatory FSH property of the synthetic LH-RH could therewith be proved indirectly.
6. In the experiments during oestrus cycle it was hardly ever possible to induce ovulations by means of LH-RH. The progesterone level in blood always was above 1,5 ng/ml.

7. Ovulations in experiments with LH-RH in heifers after removing the corpus luteum and in cows in the post-partum period were only detected when the progesterone level in blood was below 1,0 ng/ml.
8. The oestrus cycle length after ovulation induced artificially in animals after removing the corpus luteum were not different from the physiological oestrus cycle lengths. In cows in the post-partum period the length of oestrus cycle was variable.
In this experimental group a relation between the intensity of the progesterone synthesis and the length of the oestrus cycles could be found. The oestrus cycles were longer in animals with retarded uterus involution. The progesterone values measured in blood and the findings on the ovary were in accordance.
9. After LH-RH administrations the electrical resistance of the vaginal mucus usually decreased. Higher doses of LH-RH led to a more potent decrease of the electrical resistance than lower doses of LH-RH. On the 18th oestrus day the electrical resistance decreased more than on the 5th and 11th day though the doses of LH-RH were the same. In a few cases of LH-RH administration on the 6th day of oestrus cycle the electrical resistance of the vaginal mucus increased.

7. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- Anand A.S. 1973
Radioimmunoassay for equine luteinizing hormone
J. Reprod. Fert. 32, 475
- Anderson L.L., Bland K.P., Melampy R.M. 1969
Comparative aspects of uterine-luteal
relationships
Rec. Progr. Horm. Res. 25, 57
- Arimura A., Matsuo H., Baba Y., Schally A.V. 1971
Ovulation induced by synthetic luteinizing
hormone-releasing hormone
Science 174, 511
- Arimura A., Debeljuk L., Schally A.V. 1972
LH-release by LH-releasing hormone in golden
hamsters at various stages of estrous cycle.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140, no. 3
- Arimura A., Spies H.G., Schally A.V. 1973
Relative insensitivity of rhesus monkeys
to the LH-releasing hormone (LH-RH)
J. Clin. Endocrinol. Metab. 36, 372
- Barracclough C.A., Sawyer C.H. 1957
Endocrinology 61, 341
zitiert nach:
Rubinstein L. & Sawyer C.H.
Role of catecholamines in stimulating the release
of pituitary ovulating hormone(s) in rats
Endocrinology 86, 988 (1970)

Berchtold M. 1966

Die Steuerung der Ovulation
Zuchthygiene 3, 97

Besser M., McNeilly A.S., Anderson D.C., Marshall J.C.,
Harsoulis P., Hall R., Ormston B.J., Alexander L.,
Collins W.P. 1972

Hormonal responses to synthetic luteinizing hormone
and follicle stimulating hormone-releasing in man
Brit. Med. J. 3, 267

Böhm S. 1969

Versuche zur Bestimmung des Luteinisierungshormons
im Blutserum weiblicher Rinder
Vet. med. Diss., München

Boyns A.R., Gwyneth E.J., Bell E.T. 1972

Christie D.W., Parkes M.F.
Development of a radioimmunoassay for canine
luteinizing hormone
J. Endocr. 55, 279

Coates P.W., Ashby E.A., Krulich, L., Dhariwal A.P.S.

McCann S.M. 1967

An electron microscope study of the acute effects
of hypothalamic releasing factors on the anterior
pituitary gland

In: Proc. 26th Meeting Electron-Microscopy Soc. Am.,
(ed. C.J. Arceneaux) Baton Rouge
Claitor's Pub. Div., S. 232

- Crichton D.B., Schneider H.P.G., McCann S.M. 1970
Localization of luteinizing hormone-releasing
factor in the hypothalamus and neurohypophysis
as determined by an in vitro method
Endocrinology 87, 323
- Cummins L.J., de Blockey M.A., Brown J.M., Goding J.R.
1972
A study of luteinizing hormone secretion in the
cow
J. Reprod. Fert. 28, 135
- Deanesly R. 1968
The effects of progesterone, testosterone and
ergocornine on non-pregnant and pregnant
guinea pigs
J. Reprod. Fert. 16, 271
- Debeljuk L., Arimura A., Schally A.V. 1972
Effect of estradiol and progesterone on the
LH-release induced by LH-releasing hormone
(LH-RH) in intact diestrous rats and anestrus
ewes
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 139, 774
- Dufy-Barbe L., Hendrick J.C., Franchimont P.,
Faure J.M.A. 1972
Dosage radioimmunologique par immunoabsorbant des
gonadotrophines FSH et LH de lapin; applications
physiologiques
Ann. d'Endocrinol. (Paris) 33, 481
- Ender M.L. 1973
Diss. agr. Weihenstephan (in Vorbereitung)

Everett J.W. 1964

Central neural control of reproductive function
of the adenohypophysis
Physiol. Rev. 44, 373

Folkers K., Enzmann F., Baker J., Bowers C.Y.,
Schally A.V. 1969

Discovery of modification of the synthetic
tripeptide-sequence of the thyrotropin-
releasing hormone having activity
Biochem. Biophys. Res. Comm. 37, 123

Fuxe K., Hökfelt T., Nilsson O. 1967

The influence of central catecholamine neurons
on the hormone secretion from the anterior and
posterior pituitary
In: Proc. 4th Intern. Symp. on Neurosecretion
(ed. F. Stutinsky) Springer-Verlag New York, S.165

Glencross R.G., Pope G.S. 1972

Concentration of oestrogens in jugular-venous
plasma of cows during the oestrous cycle
Biochem. J. 128, 81

Goding J.R., Catt K.J., Brown J.M., Kaltenbach C.C.,
Cumming I.A., Mole B.J. 1969

Radioimmunoassay for ovine luteinizing hormone.
Secretion of luteinizing hormone during estrus and
following estrogen administration in the sheep
Endocrinology 85, 133

- Golter, T.D., Reeves J.J., O'Mary C.C., Schally A.V.,
Arimura A. 1972
Effect of synthetic LH-RH/FSH-RH on serum LH in
bulls
Proc., Western Section, Am. Soc. Anim. Sci. 23
- Greenwood F.C., Hunter W., Glover J. 1963
Preparation of 131 I-labelled human growth
hormone of high specific radioactivity
Biochem. J. 89, 114
- Grunert E., Esser J. 1971
Der Einfluß intrauteriner Jodinfusionen auf
den Zyklus des Rindes
Zuchthyg. 6, 79
- Henricks D.M., Dickey J.F., Niswender G.D. 1970
Serum luteinizing hormone and plasma progesterone
levels during the estrus cycle and early pregnancy
in cows
Biol. Reprod. 2, 346
- Herlyn D. 1970
Versuche zur analytischen Erfassung des
Luteinisierungshormons im Blut weiblicher Rinder
Diss. med. vet., München
- Hinsey J.C. 1937
The relation of the nervous system to ovulation
and other phenomena of the female reproductive
tract
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 5, 269

Hoffmann B. 1972

Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen
Rind. Entwicklung von Meßverfahren und
physiologische Daten
Habilitationsschrift, Weihenstephan

Hohlweg W., Junkmann K. 1932

Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des
Hypophysenvorderlappens
Klin. Wschr. 11, 321

Kamberi J.A., Schneider H.P.G., McCann S.M. 1970

Action of dopamine to induce release of FSH-
releasing factor (FRF) from hypothalamic tissue
in vitro
Endocrinology 86, 278

Kanematsu S., Sawyer C.H. 1963

Effects of intrahypothalamic and intrahypophysial
estrogen implants on pituitary prolactin and
lactation in the rabbit
Endocrinology 72, 243

Karg H. 1968

Endokrine Regelkreise der Fortpflanzung und deren
willkürliche Steuerung
Z. Tierzücht. u. Züchtungsbiol. 84, 262

Karg H., Schams D. 1968

Anwendung der LH-Bestimmung im Blutserum von
Kühen zur Kontrolle der endokrinen Reaktion
nach Gestagenbehandlung
VI. Congr. Int. Reprod. Anim. Insem. Artif.,
Paris, Vol. I, 665

- Karg H. 1970
Physiologische Grundlagen der Steuerung des
Sexualzyklus
Tierzüchter 22, 63
- Kastin A.J., Schally A.V., Gual C., Midgley A.R.,
Bowers C.Y., Diaz-Infante Jr. A. 1969
Stimulation of LH-release in men and women by
LH-releasing hormone purified from porcine
hypothalami
J. Clin. Endocr. Metab. 29, 1046
- Kastin A.J., Schally A.V., Gual C., Arimura A. 1972
Release of LH and FSH after administration of
synthetic LH-releasing hormone
J. Clin. Endocr. 34, 735
- Markee J.E., Everett J.W., Sawyer C.H. 1952
Recent Progr. Horm. Res. 7, 139
In: Role of catecholamines in stimulating the
release of pituitary ovulating hormones in rat
(ed. L. Rubinstein & C.H. Sawyer)
Endocrinology 85, 988 (1970)
- Martini L., Fraschini F., Motta M. 1968
Neural control of anterior pituitary function
Rec. Progr. Horm. Res. 24, 439
- Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G., Arimura A.,
Schally A.V. 1971 a
Structure of the porcine LH-and FSH-releasing
hormone. I. The proposed amino acid sequence
Biochem. Biophys. Res. Comm. 43, 1334

- Matsuo H., Arimura A., Nair R.M.G., Schally A.V. 1971 b
The synthesis of porcine LH- and FSH-releasing
hormone by the solid-phase method
Biochem. Biophys. Res. Comm. 45, 822
- McCann S.M., Taleisnik S., Friedmann H.M. 1960
LH-releasing activity in hypothalamic extracts
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 104, 432
- McCann S.M., Porter J.C. 1969
Hypothalamic pituitary stimulating and inhibiting
hormones
Physiol. Rev. 49, no. 2
- McCann S.M. 1970
Neurohormonal correlates of ovulation
Fed. Proc. 29, no. 6
- McCracken J.A. 1963
Plasma progesteron concentration after removal of
the corpus luteum in the cow.
Nature (Lond.) 198, 507
- Mittler J.C., Arimura A., Schally A.V. 1971
Release and synthesis of LH and FSH in pituitary
cultures in response to hypothalamic preparations
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 133, 1321

- Morrow D.A., Roberts S.J., McEntee K., Gray H.G. 1966
Postpartum ovarian activity and uterine involution
in dairy cattle
J. Am. Vet. Med. Ass. 149, 1596
- Morrow D.A., Roberts S.J., McEntee K. 1969
A review of postpartum ovarian activity and
involution of the uterus and cervix in cattle
The Cornell Veterinarian, Vol. LIX, no. 1
- Nalbandov A.V. 1970
Comparative aspects of corpus luteum function
Biol. Reprod. 2, 7
- Onuora G.J., Furr B.J.A., Bonney R.C., Cunningham F.J.
1972
The effect of hypothalamic gonadotrophin releasing
hormones on the secretion of luteinizing hormone
from the pituitary gland of the domestic fowl
J. Reprod. Fert. 31, 487
- Quinn D.L. 1970
Hypothalamic mechanism involved in the control of
gonadotropic hormone secretion in the guinea pig:
Evidence of elevated brain thresholds to electrical
stimulation in the medial preoptic-anterior
hypothalamic region during "early" diestrus
Endocrinology 87, 343

- Ramirez V.D., Abrams R.M., McCann S.M. 1964
Effect of estradiol implants in the hypothalamo-
hypophysial region of the rat on the secretion of LH
Endocrinology 75, 343
- Redmond W.C. 1968
Ovulatory response to brain stimulation or
exogenous LH in progesteron-treated rats
Endocrinology 83, 1013
- Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V. 1970 a
Studies on dose response relationship of LH-RH
in sheep
J. Anim. Sci. 31, 5
- Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V. 1970 b
Release of luteinizing hormone (LH) by LH-releasing
hormone (LH-RH)
J. Anim. Sci. 31, 933
- Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V. 1970 c
Pituitary responsiveness to purified luteinizing
hormone-releasing hormone (LH-RH) at various stages
of the estrous cycle in sheep
J. Anim. Sci. 32, 123
- Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V. 1971
Changes in pituitary responsiveness to luteinizing
hormone-releasing hormone (LH-RH) in anestrus
ewes pretreated with estradiol benzoate
Biol. Reprod. 4, 88

Reeves J.J., Chakraborty P.K., Golter T.D., Beck T.W.,
Tarnavsky G.K. 1972 a
Physiological studies on synthetic LH-RH/FSH-RH
in domestic animals
Serono Foundation Conference
Acapulco, Mexico; June 29 - July 1, 1972

Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V., Kragt C.L.,
Beck T.W., Casey J.M. 1972 b
Effects of synthetic LH/FSH-RH on serum LH, serum
FSH and ovulation in anestrus ewes
J. Anim. Sci. 35, 1

Rubinstein L., Sawyer C.H. 1970
Role of catecholamines in stimulating the release
of pituitary ovulating hormone in rats
Endocrinology 86, 988

Saiduddin S., Riesen J.W., Tyler W.J., Casida L.E. 1968
Relation of post partum interval to pituitary
gonadotropins, ovarian follicular development and
fertility in dairy cows
Wisc. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 270, 27

Sandow J., Seeger R., Heptner W., König W. 1973
Pituitary reserve capacity and pituitary
responsiveness to LH-RH during the estrus cycle
in sheep
Acta endocr. 173, 84

Rüsse M. 1968
Beziehung zwischen Uterusinvolutions und
Konzeptionsfähigkeit beim Rind
Zuchthyg. 3, 183

- Schally A.V., Arimura A., Baba Y., Nair R.M.G., Matsuo H.,
Redding T.W., Debeljuk L. 1971 a
Isolation and properties of the LH and FSH releasing
hormone
Biochem. Biophys. Res. Comm. 43, 393
- Schally A.V., Kastin A.J., Arimura A. 1971 b
Hypothalamic FSH and LH-regulating hormone:
Structure, physiology and clinical studies
Fertility and Sterility 22, 11
- Schams D., Karg H. 1969 a
Radioimmunologische LH-Bestimmung im Blutserum vom
Rind unter besonderer Berücksichtigung des Brunst-
zyklus
Acta endocrinologica 61, 96
- Schams D., Karg H. 1969 b
Zeitlicher Verlauf und analytische Erfassbarkeit
des endogen bzw. exogen erhöhten Blutspiegels
an Luteinisierungshormon beim Rind
Zuchthyg. 4, 61
- Schams D., Butz H.D. 1972
Zeitliche Beziehungen zwischen Brunstsymptomen,
elektrischen Widerstandsveränderungen des Vaginal-
schleims, präovulatorischer LH-Ausschüttung des
Luteinisierungshormons und Ovulation beim Rind
Zuchthyg. 7, 49
- Schneider H.P.G., McCann S.M. 1969
Possible role of dopamine as transmitter to
promote discharge of LH-releasing factor
Endocrinology 85, 121

- Schneider H.P.G., Dahlen H.G. 1972
Continous recording of plasma gonadotropin in
women following intravenous LRH
Life Sciences 11, 623
- Schneider H.P.G., Dahlen H.G. 1973
Evidence for partial refractoriness of the human
pituitary
Acta endocr. 173, 86
- Snook R.B., Saatman R.R., Hansel W. 1971
Serum progesterone and luteinizing hormone levels
during the bovine estrous cycle
Endocrinology 88, 678
- Sprague E.A., Hopwood M.L., Niswender G.D., Wiltbank J.N.
1971
Progesterone and luteinizing hormone levels in
peripheral blood of cycling beef cows
J. Anim. Sci. 33, no. 1
- Stevens K.R., Spies H.G., Hilliard J., Sawyer C.H. 1970
Sites of action of progesterone in blocking
ovulation in the rat
Endocrinology 86, 970

- Symons A.M., Cunningham N.F., Saba N. 1972
Preliminary observations on the effects of
LH-RH and oestradiol-17 β on plasma gonadotropin
in the anestrus ewe.
Soc. Endocrin. 1972, im Druck
- Watanabe S., McCann S.M. 1968
Localization of FSH-releasing factor in the
hypothalamus and neurohypophysis as determined
by an in vitro assay
Endocrinology 82, 664
- Wagner W.C., Saatman R., Hansel W. 1969
Reproductive physiology of the postpartum cow.
II. Pituitary, adrenal and thyroid function
J. Reprod. Fert. 18, 501
- Wagner W.C., Strohbein R.E., Harris P.A. 1972
ACTH, corticoids and luteal function in heifers
Res. 7th Int. Congr. Anim. Reprod. Art. Insem.,
München 6. - 9. Juni 1972, S. 131

Herrn Professor Dr. Heinrich Karg möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, seine wissenschaftlichen Anregungen sowie für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut meinen besonderen Dank sagen.

Insbesondere danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Dieter Schams für die methodische Einarbeitung und die zahlreichen Ratschläge und Diskussionen.

L e b e n s l a u f

Am 10. 10. 1945 wurde ich, Fritz Höfer, als Sohn des praktischen Tierarztes Hans Höfer und seiner Ehefrau Helmy Höfer in Landsberg am Lech geboren.

Von 1951 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Feilnbach, Landkreis Rosenheim. Anschließend trat ich in das Finsterwalder Gymnasium in Rosenheim über und legte dort 1966 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1966/67 schrieb ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität München für das Studium der Tiermedizin ein. Im November 1971 schloß ich diese Fachrichtung mit dem Staatsexamen ab.

Von Anfang Dezember 1972 bis Ende April 1973 arbeitete ich am Institut für Physiologie der Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Weißenstephan. In dieser Zeit fertigte ich die vorliegende Dissertation an.

Seit März 1970 bin ich mit der Glasmalerin Maximiliane Höfer, geborene Weiß, verheiratet.

